



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

**QUESO ZACAZONAPAN: ZONIFICACIÓN, CARACTERIZACIÓN
FISICOQUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y SU ELABORACIÓN CON
CULTIVOS LÁCTICOS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

P R E S E N T A:

MCARN. JAIR JESÚS SÁNCHEZ VALDÉS

El Cerrillo Piedras Blancas, Estado de México, México, Junio 2016



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

**QUESO ZACAZONAPAN: ZONIFICACIÓN, CARACTERIZACIÓN
FISICOQUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y SU ELABORACIÓN CON
CULTIVOS LÁCTICOS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

P R E S E N T A:

MCARN. JAIR JESÚS SÁNCHEZ VALDÉS

COMITÉ TUTORAL

TUTOR ACADÉMICO:

DCARN. JULIETA GERTRUDIS ESTRADA FLORES

TUTORES ADJUNTOS:

Ph.D. OCTAVIO ALONSO CASTELÁN ORTEGA

DCARN. FRANCISCA AVILÉS NOVA

El Cerrillo Piedras Blancas, Estado de México, México, Junio 2016

RESUMEN

En México, la conservación de la leche, manteniendo sus características nutricionales ha dado lugar a la producción de quesos tradicionales cuyo consumo es parte de la cultura de alimentación entre los mexicanos. Se producen cerca de 40 tipos diferentes, la mayor parte son artesanales, elaborados con leche bronca.

La producción de queso en la región sur del estado de México es una actividad complementaria a la producción de leche con más de 600 años de tradición. El queso de Zacazonapan (fresco y añejo) es un producto que mantiene autenticidad y originalidad que lo liga a las circunstancias sociales, culturales y de disponibilidad de recursos naturales, cumple un rol importante como eslabón entre el sector agrícola y el mercado. El objetivo de este trabajo fue conocer las características propias del queso añejo de Zacazonapan determinando zona de producción, proceso de elaboración, grado de higiene en el entorno de fabricación del queso, evolución fisicoquímica y microbiológica durante la maduración del queso en dos épocas de producción. Se localizaron a 31 productores que saben elaborar este queso de los cuales solo 7 lo siguen produciendo. En cuatro queserías se observó el proceso de elaboración y se encontraron acciones que no se llevan a cabo en la elaboración de quesos en otras zonas de México.

Se determinó la prevalencia y el grado de contaminación por mohos y levaduras, bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales y *Salmonella* spp., como indicadores de calidad e higiene en el entorno de fabricación del queso de Zacazonapan. En cinco queserías se obtuvieron muestras de agua, leche, cuajo, queso, manos, superficies de los utensilios que están en contacto con el queso.

Todas las superficies presentaron contaminación, se observa la falta de higiene al elaborar el queso, los conteos durante la elaboración de queso fueron: Para leche de 6.8, 6.7 y 4.5 log₁₀ UFC/ml para mohos y levaduras, bacterias mesófilas aerobias y Coliformes totales respectivamente. En queso, se detectó la presencia de Salmonella y presentó cuentas de 9.16, 9.23 y 9.18 log₁₀ UFC/g para mohos y levaduras, bacterias mesófilas aerobias y Coliformes totales. La poca higiene en queserías y utensilios al elaborar el queso representa un riesgo para la salud humana. La microbiota en quesos de 12 queseros Zacazonapan fue estudiada durante la maduración en condiciones ambientales durante dos épocas de producción (7 queseros en la estación seca y 5 en la época de lluvias). Muestras de queso se obtuvieron a 0, 30, 60, 120 y 150 días de maduración con el fin de evaluar mesófilos aerobios totales, coliformes totales y fecales, *Staphylococcus* spp., mohos y levaduras, *Salmonella* spp. y *Listeria* spp. Durante la maduración en la estación seca, la corteza del queso se agrietó provocando la contaminación del interior y el aumento de la carga microbiana. Hacia el final del proceso de maduración, los mohos y levaduras, mesófilos aerobios totales, *Staphylococcus* spp., el recuento de coliformes totales y fecales llegaron a 10,67, 7,84, 7,45, 7,77 y > 3,04 UFC/g ó ml, respectivamente. Cuando se llevó a cabo la maduración en época de lluvias, los recuentos tomados por los grupos evaluados después de 60 días de maduración disminuyeron y al final del proceso de maduración, los mohos y levaduras, mesófilos aerobios totales, *Staphylococcus* spp., coliformes totales y fecales llegaron a 9,53, 9,96, 8,14, 6,52 y 0,64 UFC/g ó ml, respectivamente. En las condiciones en que se llevó a cabo este estudio, 150 días de maduración no son suficientes para disminuir los recuentos en los grupos no deseados, para que

el producto final no presente ningún riesgo para los consumidores. La evolución fisicoquímica fue estudiada en quesos de 12 queserías durante la maduración ambiental en dos épocas de producción (7 queserías en la época de secas y 5 en la época de lluvias). Se obtuvieron muestras a los 0, 30, 60, 120 y 150 días de maduración en cada caso para evaluar humedad (%), Cenizas (g/kg), Grasa (g/kg), Proteína (g/kg) NaCl (g/kg), Acidez (°D) y pH. Durante la maduración se observó pérdida de humedad en ambos casos, lo que implica que durante la maduración se incrementa la concentración de sólidos afectando el contenido de cenizas, grasa, proteína NaCl. La acidez y pH se incrementaron debido a las reacciones bioquímicas que se llevaron a cabo al interior del queso. El madurar el queso sin controlar factores como humedad relativa y temperatura (característica propia de este queso) le proporciona atributos que lo hacen diferente de otros quesos pero con calidad fisicoquímica similar a los producidos en otras partes de México y el mundo. El queso añejo de Zacazonapan tiene una humedad final de 359 g/kg, grasa de 201 g/kg, proteína de 268 g/kg, pH de 4.5 y NaCl de 38 g/kg. Se concluye que el producto es de buena calidad, el proceso de elaboración es artesanal lo que lo clasifica como un queso original, haciéndolo candidato para la obtención de algún sello de calidad.

ABSTRACT

In Mexico, the preservation of milk, keeping its nutritional characteristics has resulted in the production of traditional cheeses whose consumption is part of the food culture among Mexicans. About 40 different types occur, most are handmade, made with raw milk. Cheese production in the southern region of the state of Mexico is a complementary activity to the production of milk with more than 600 years of tradition. Zacazonapan cheese (fresh and mature) is a product that keeps authenticity and originality that the league to the circumstances social, cultural and natural resource availability, plays an important role as a link between agricultural sector and the market. The aim of this work was to determine the characteristics of the Zacazonapan mature cheese, determining production area, form of processing, level of hygiene in the environment cheesemaking, physico-chemical and microbiological evolution during cheese ripening in two seasons of production. It is located to 31 producers who knows how to make this cheese of which only 7 are still continuing. In four dairies the process of elaboration is observed and found not actions are carried out in cheese making in other areas of Mexico. The prevalence and degree of contamination by molds and yeasts, mesophilic aerobic bacteria, total coliforms and *Salmonella* spp., was determined as indicators of quality and hygiene in the manufacturing environment of Zacazonapan cheese. In five Cheese factories, samples of water, milk, curd, cheese, hands, utensils surfaces that are in contact with the cheese were obtained. All surfaces filed pollution, poor hygiene is observed to make cheese, counts during cheese making were: For milk 6.8, 6.7 and 4.5 log₁₀ CFU / ml for molds and yeasts, mesophilic aerobic bacteria and total

coliforms respectively. In cheese, the presence of Salmonella was detected and presented accounts 9.16, 9.23 and 9.18 log₁₀ CFU/g for molds and yeasts, aerobic mesophilic bacteria and total coliforms. Poor hygiene in dairies and utensils to make cheese poses a risk to human health. Microbiota in cheeses from 12 Zacazonapan cheesemakers was studied during ripening in environmental conditions over two production periods (7 cheesemakers in the dry season and 5 in the rainy season). Cheese samples were obtained at 0, 30, 60, 120 and 150 days of ripening in order to evaluate Total Aerobic Mesophilic Bacteria, Total and Fecal Coliforms, *Staphylococcus* spp., Mold and Yeast, *Salmonella* spp, and *Listeria* spp. During ripening in the dry season, the cheese rind cracked causing the contamination of the interior and increasing the microbial load. By the end of the ripening process, the Mold and Yeast, Total Aerobic Mesophilic Bacteria, *Staphylococcus* spp., and Total and Fecal Coliform counts had reached 10.67, 7.84, 7.45, 7.77 and >3.04 UFC/g or mL respectively. When ripening is undertaken in the rainy season, the counts taken for the groups evaluated after 60 days of ripening decreased and, by the end of the ripening process, the Mold and Yeast, Total Aerobic Mesophilic Bacteria, *Staphylococcus* spp., and Total and Fecal Coliform counts had reached 9.53, 9.96, 8.14, 6.52 and 0.64 UFC/g or mL respectively. It is, therefore, considered that, under the conditions applied in this study, 150 days of ripening is not sufficient to decrease the counts for the unwanted groups, in order for the final product do not posing any risk to consumers. The physico-chemical evolution in cheeses from 12 Zacazonapan cheesemakers during ripening in environmental conditions over two production periods (7 cheesemakers in the dry season and 5 in the rainy season). Chesse

samples were obtained at 0, 30, 60, 120 and 150 days of ripening in order to evaluate Moisture (%) Ash (g/kg) Fat (g/kg) Protein (g/kg) NaCl (g/kg), acidity (°D) and pH. Moisture loss is observed in both cases during ripening, which means that during ripening solids concentration increases affecting the ash content, fat, protein NaCl. Acidity and pH are increased due to the biochemical reactions that take place inside the cheese. Carrying out cheese ripening without controlling factors such as relative humidity and temperature (characteristic of this cheese) it provides attributes that make it different from other cheeses but with physico-chemical quality similar to those produced in other parts of Mexico and the world. Zacazonapan mature cheese has a final moisture content of 359 g/kg, fat of 201 g/kg, protein of 268 g/kg, pH of 4.5 and 38 g NaCl/kg. It is concluded that the product is of good quality, the process of elaboration is artisanal what classifies as a cheese original, making it candidate to obtain a seal of quality.

INDICE

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Los productos tradicionales.	4
2.2 Marco teórico general de las indicaciones geográficas y las denominaciones de origen.	6
2.2.1 Las denominaciones de origen en la Unión Europea.	8
2.2.2 Situación de las denominaciones de origen en México.	9
2.3 El queso	12
2.3.1 Método tradicional para la elaboración de queso.	14
2.3.2 Cambios fisicoquímicos en el proceso de maduración de los quesos.	17
2.3.3 Cambios microbiológicos en el proceso de maduración de los quesos.	18
2.3.4 Porque evaluar los quesos tradicionales.	19
2.4 Ejemplo de caso: Queso Cotija Región de Origen (QCRO)	21
III. JUSTIFICACIÓN	24
IV. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	26
V. HIPOTESIS	27
VI. OBJETIVOS	28
VII. MATERIALES Y MÉTODO.	30
7.1 Zona de estudio.	30
7.2 Localización y descripción de la producción del queso añejo de Zacazonapan.	31

7.3	Descripción del proceso de elaboración del queso añejo de Zacazonapan	33
7.4	Determinación de los parámetros fisicoquímicos del queso añejo de Zacazonapan	33
7.5	Grado de contaminación e higiene en el entorno de fabricación del queso añejo de Zacazonapan.	34
7.6	Evolución fisicoquímica durante la maduración del queso añejo de Zacazonapan bajo condiciones ambientales, en dos épocas de producción	35
7.7	Evolución microbiológica durante la maduración del queso añejo de Zacazonapan bajo condiciones ambientales en dos épocas de producción.	37
VIII.	RESULTADOS	41
8.1	Capítulo de libro	41
8.1.1	Portada del libro y registro	41
8.1.2	Diagnostico de la calidad sanitaria en las queserías artesanales del municipio de Zacazonapan, estado de México y del producto final.	42
8.2	Artículo enviado a Agricultura Sociedad y Desarrollo	58
8.2.1	Carta de recepción	58
8.2.2	La producción de queso en el sur del Estado de México; localización, proceso de elaboración y calidad fisicoquímica del Queso Añejo de Zacazonapan.	60
8.3	Artículo enviado a Salud Pública de México	81
8.3.1	Carta de recepción	82
8.3.2	Carta de aceptación	84
8.3.3	Diagnostico de la calidad sanitaria en las queserías artesanales del municipio de Zacazonapan, Estado de México y del producto final.	85
8.4	Artículo enviado a Indian Journal of Animal Sciences	108
8.4.1	Carta de recepción	108
8.4.2	Microbial evolution during ripening of “Aged Cheese Zacazonapan” under environmental conditions over two production periods.	108
8.5	Evolución fisicoquímica durante la maduración del queso añejo de Zacazonapan bajo condiciones ambientales, en dos épocas de producción.	128
IX.	DISCUSIÓN GENERAL	145

X.	CONCLUSIÓN GENERAL	153
XI.	LITERATURA CITADA	155

INDICE DE CUADROS

Capítulo de libro

Número	Nombre del cuadro	Página
1	Conteos realizados a agua y manos (Promedio \pm D.E.).	46
2	Conteos realizados a superficies de utensilios.	48
3	Conteos realizados a leche, agua, cuajo y queso.	51

Artículo enviado a Agricultura Sociedad y Desarrollo

Número	Nombre del cuadro	Página
1	Parámetros fisicoquímicos del queso añejado por 120 días (B.H.).	75

Artículo enviado a Salud Pública de México

Número	Nombre del cuadro	Página
I	Recuentos (\log_{10} UFC/ml) microbianos realizados a agua y manos.	94
II	Recuentos (\log_{10} UFC/ml) microbianos en utensilios.	95
III	Recuentos (\log_{10} UFC/g ó ml) microbianos en leche, agua, cuajo y queso fresco zacazonapan.	96

Artículo enviado a Indian Journal of Animal Science

Table	Nombre del cuadro	Página
1	Changes in the counts of the microbial groups of Aged Cheese Zacazonapan during ripening in dry and rainy season.	116
2	Presumptive analyses for <i>Salmonella</i> spp. and <i>Listeria</i> spp. of Aged Cheese Zacazonapan during ripening in dry and rainy season.	121

Artículo no enviado

Tabla	Nombre del cuadro	Página
1	Evolución de los parámetros fisicoquímicos durante la maduración no controlada del queso Zacazonapan elaborado al final de la época de producción de queso (época de secas).	135
2	Evolución de los parámetros fisicoquímicos durante la maduración no controlada del queso añejo de Zacazonapan elaborado en los primeros días de la época de producción de queso (época de lluvias).	136

INDICE DE FIGURAS

Artículo enviado a Agricultura Sociedad y Desarrollo

Número	Nombre de la figura	Página
1	Localización de productores de leche (potreros) y productores de queso añejo (Queserías), ubicados en los municipios de Zacazonapan y Temascaltepec (arriba) y los municipios de Amatepec y Tlatlaya (abajo).	69
2	Flujograma del proceso de elaboración del queso añejo de Zacazonapan.	72

Artículo enviado a Salud Pública de México

Número	Nombre de la figura	Página
I	Temperatura y precipitación en zacazonapan de noviembre de 2010 a febrero de 2011.	93

Artículo enviado a Indian Journal of Animal Science

Figure	Nombre de la figura	Página
1	Temperature and monthly rainfall of the place in which Aged Cheese Zacazonapan is ripened.	114

Artículo no enviado

Número	Nombre de la figura	Página
1	Temperaturas y precipitaciones en la zona de producción del queso añejo de Zacazonapan en el 2010 (CONAGUA).	135

I. INTRODUCCIÓN

La agroindustria rural latinoamericana elabora una amplia variedad de productos alimenticios, que aún mantienen autenticidad y originalidad ligadas a las circunstancias sociales, culturales y de disponibilidad local de recursos naturales. Por su parte, los consumidores conocen estos productos pero no tienen mayor garantía sobre su origen o su composición y forma de elaboración, excepto por la confianza que le tienen al productor o al comerciante (Oyarzún, 2001).

En los países *desarrollados*, cuando se ofrecen garantías de que un producto alimenticio corresponde a lo que se busca, el consumidor consciente está dispuesto a pagar un precio más alto por tal producto garantizado. En esta línea se encuentran tanto los alimentos de origen orgánico o biológico como aquellos que provienen de una zona geográfica determinada, los que han sido producidos por métodos tradicionales y los que han sido producidos respetando las leyes sociales y laborales de los trabajadores (Oyarzún, 2001).

En América Latina, de manera incipiente, el conocimiento e interés del consumidor por estas características de calidad de los alimentos ha ido en aumento en los últimos años. A su vez, aunque represente hoy un nicho pequeño de mercado, puede convertirse en una oportunidad para que los empresarios rurales, en forma pro-activa, se organicen para proteger sus productos, potenciar la excelencia de calidad de los mismos y considerar el uso de sellos de calidad como una herramienta de comercialización, que sirva para comunicar y garantizar al

consumidor que el producto tiene las características que ofrece y ostenta (Oyarzún *et al.*, 2002).

En México, la conservación de la leche, manteniendo sus características nutricionales ha dado lugar a la producción de quesos tradicionales cuyo consumo es parte de la cultura de alimentación entre los mexicanos. Se producen cerca de 40 tipos diferentes, la mayor parte son artesanales, elaborados con leche bronca (Villegas, 1993). Los hay también industrializados elaborados con leche pasteurizada, en cuya evolución están involucrados avances tecnológicos provenientes de la industria química, de la que se originan nuevos componentes para su elaboración, también de la industria de bienes de capital, equipo y embalaje (Del Valle, 2007).

Para poder promover los quesos artesanales, e incluso acceder a una Marca Colectiva (M.C.) o a una Denominación de Origen Protegida (D.O.P.) es necesario tener prácticas de manufactura estandarizadas y conocer las características finales del producto (Alvarado *et al.*, 2007).

La M.C. y/o la D.O.P. son un recurso contra las prácticas comerciales fraudulentas de los productos agrícolas que guardan relación con el origen (Granados y Álvarez, 2007). En la Unión Europea y en muchos países son consideradas como un factor central de las políticas de calidad de los productos agroalimentarios y han tenido un importante impacto en la comercialización de productos originarios y en el desarrollo de regiones rurales (MAPA, 2002).

La reciente modificación de la Norma Oficial Mexicana (NOM) 243 (SSA, 2010), establece que los quesos artesanales deben ser elaborados con leche pasteurizada y no con leche cruda, como actualmente sucede. Es necesario entonces defender a los quesos mexicanos genuinos, delimitando la zona de producción, describiendo su proceso de elaboración, determinando la calidad fisicoquímica y microbiológica del queso y la sanidad del entorno de fabricación (quesería) del queso.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Los productos tradicionales.

La agroindustria rural latinoamericana elabora una amplia variedad de productos alimenticios, uno de estos productos es el queso, elaborado de leche de vaca y de oveja principalmente, estos productos aún mantienen autenticidad y originalidad ligadas a las circunstancias sociales, culturales y de disponibilidad local de recursos naturales. Por otra parte, los consumidores conocen estos productos pero no tienen mayor garantía sobre su origen o su composición y forma de elaboración, excepto por la confianza que le tienen al productor o al comerciante (Oyarzún, 2001).

La elaboración de quesos artesanales, conocidos como “caseros”, “criollos” o “de campo”, constituyen una antigua tradición, que surge como una actividad complementaria de la ganadería. Se comercializan de manera informal en ferias, mercados callejeros y diferentes negocios en pueblos y ciudades, como así también a la vera de las rutas. En general tanto su elaboración como su comercialización no están sujetas a controles bromatológicos ni responden a alguna tipificación (Cabrera *et al.*, 2000).

En los últimos años del siglo XX se empezaron a cuestionar las bondades del sistema alimentario de tipo industrial, principalmente en países europeos donde

han tomado relevancia los aspectos relacionados con la calidad, higiene e inocuidad de los alimentos (Cesín *et al.*, 2008).

En el contexto anterior, el alimento industrializado genera desconfianza y se le percibe como portador de riesgo. Su carácter supranacional, fragmentario y desconocido conduce al temor de lo que pueda contener, se le relaciona con sustancias químicas, como aditivos, conservadores y saborizantes, insumos indispensables para la elaboración de estos alimentos, y que pueden tener efectos nocivos en la salud humana (Cesín *et al.*, 2008).

La producción tradicional de queso, ha venido tomando fuerza en distintas entidades del mundo, convirtiéndose en una actividad complementaria de la ganadería e incrementando su importancia como una actividad económica principal (Cabrera *et al.*, 2000).

En México, se producen más de 30 quesos genuinos, de los cuales 17 son elaborados de manera tradicional, cuatro son tradicionales e industriales y el resto son industriales (Cervantes *et al.*, 2008), no obstante poco se sabe sobre sus características, entre los quesos tradicionales más conocidos a nivel nacional están: queso Cotija, Oaxaca, Asadero, Molido, Adobera, Bola de Ocosingo, Trenzado, entre otros; lo anterior ilustra el potencial de quesos genuinos que tiene México para dar a conocerlos por medio de investigaciones científicas.

Castañeda (2002), indica que para tipificar un queso es necesario conocer características como:

1. La naturaleza de la leche, en relación con la raza, las prácticas de producción, las condiciones de la colecta, y la composición.
2. La tecnología utilizada.
3. El ecosistema microbiano que participa en el aspecto (pasta, corteza) y en las propiedades organolépticas (textura, sabor).
4. La evolución fisicoquímica y bioquímica durante la maduración.
5. Las características sensoriales del producto final.

2.2 Marco teórico general de las indicaciones geográficas y las denominaciones de origen.

El sistema de protección de las denominaciones de origen (DO) se estableció por la necesidad de proporcionar un recurso contra las prácticas comerciales fraudulentas que guardaban relación con el origen de los productos agrícolas (Granados y Álvarez, 2007).

La designación de productos agroalimentarios con el nombre de su lugar de producción, en la distribución y venta es una práctica tan antigua como la

existencia de los mercados en los que se producían tales transacciones. Al hacerlo, se les confería un valor especial o un mérito particular, reconociéndose implícitamente, la fuerte unión entre el medio natural, a través de factores como suelo, geografía, topografía, clima y cultivos, y el hombre y sus especificidades históricas y culturales expresadas en métodos de producción y transformación, que en conjunto configuran las características propias y la calidad de los productos (Couillerot, 2000; OMPI, 2002).

En general, los productos amparados con este tipo de denominaciones de origen o de calidad tienen en común, por un lado, un reconocimiento administrativo de especial calidad y, por otro, las exigencias de reglamentación interna y de controles permanentes sobre la producción, elaboración y calidad final del producto (Bartolomé-García, 1994).

Las DO tuvieron su origen, como sistema legalizado, en varios países europeos, principalmente en los mediterráneos, en los que tienen su más fuerte y ancestral tradición, formando parte de la cultura alimentaria Internacionalmente, las DO han sido protegidas por diferentes convenios y acuerdos; sin embargo, difieren en las definiciones, grados de especificidad y alcances de la protección. Los más importantes han sido el convenio de Paris (1883), el Acuerdo de Madrid (1891) y el arreglo de Lisboa (1958) (Granados y Álvarez, 2007).

De acuerdo con Decoster (1994) y Galizzi (1998), las DO pueden proporcionar a los consumidores la información y la seguridad que necesitan, convirtiéndose así

en una útil herramienta competitiva por lo que concierne a los elaboradores de queso. Estos pueden basar así su estrategia de marketing en el hecho de que su producción está amparada por una DO.

2.2.1 Las denominaciones de origen en la Unión Europea.

El sistema legal de DO más desarrollado lo tiene la Unión Europea (UE), donde tuvo origen el concepto, específicamente en los países mediterráneos, como España, Portugal, Francia, Italia y Grecia, en los que existe una extensa tradición en la valoración y protección de los productos tradicionales y con origen geográfico identificable y los que representan comúnmente signos de identidad cultural (Granados, 2004).

La UE creó en 1992 un marco regulatorio común a todos los estados miembros para la protección y promoción de alimentos y bebidas con un origen geográfico reconocible (Ilbery *et al.*, 2000). Todo esto con el objetivo de estimular la producción agrícola variada, valorar y proteger los productos específicos y de calidad, mejorar la renta de los agricultores, especialmente en zonas menos favorecidas, y, ofrecer información al consumidor sobre el carácter específico de los productos (Granados y Álvarez, 2002).

La regulación establece los procedimientos de registro desde el ámbito nacional hasta el comunitario, lo cual requiere la definición y descripción precisa del producto, los factores que acreditan el vínculo con el medio natural y la

delimitación geográfica; exige la existencia de estructuras de control como órganos con facultades de inspección, sanción y certificación del producto que garanticen el cumplimiento de los requisitos del reglamento interno de cada producto y que deben operar bajo las disposiciones de la Norma EN 45011 (Granados y Álvarez, 2002).

En la UE se reconocen los beneficios de las denominaciones de origen en los ámbitos económicos, sociales y culturales, principalmente en las áreas rurales, por su contribución a la recuperación, valorización y protección de los productos endógenos, como materias primas, saberes, técnicas tradicionales; en la diversificación de la producción agraria; en el mejoramiento de la calidad de los productos y en el refuerzo de la capacidad de iniciativa y protagonismo de las comunidades y de su identidad cultural (Neves and Cristovão, 1996).

En América Latina es aún incipiente la práctica de resaltar en forma distintiva, mediante un sello de calidad, una característica diferenciadora de los productos alimenticios (Oyarzún y Tartanac, 2002).

2.2.2 Situación de las denominaciones de origen en México.

La historia de las Denominaciones de Origen México comienza con el Acuerdo de

Lisboa de 1958, siendo este país uno de los seis signatarios. Lejos de la tradición de las Denominaciones de Origen, México desarrolló lentamente el concepto en América Latina a partir del modelo del tequila para emitir su primera ley en 1972 reconociendo la protección de la DO Tequila (DOT). Aún cuando en América del Norte hay un par más de Indicaciones Geográficas (Bourbon y Whiskey canadiense), Canadá y Estados Unidos de América si reconocieron la DOT en el tratado de libre comercio con América del Norte (TLCAN o NAFTA, 1994). En la última década Europa y México han reconocido bilateralmente sus bebidas con DO, hasta ahora 213 europeas y 3 mexicanas producidas con agaves: Tequila, mezcal y bacanora. De 1997 al 2004 las Denominaciones de Origen mexicanas llegaron a once, entre ellas cinco destilados (Tequila, mezcal, bacanora, sotol y Charanda); tres productos agrícolas (mango Ataulfo, café de Veracruz y de Chiapas); dos artesanías (maderas y productos de Olinalá y cerámica de Talavera) y joyería de Ámbar de Chiapas (Valenzuela-Zapata, 2007).

México dispone del sistema de protección de DO más antiguo y desarrollado de América Latina, siendo el país Latinoamericano con mayor cantidad y variedad de productos registrados, tanto en el ámbito nacional como en el internacional. El tequila por ejemplo, se encuentra protegido a nivel nacional desde 1967 y a nivel internacional desde 1978 (Rodríguez, 2001).

Las Denominaciones de Origen frecuentemente se enmarcan dentro de un concepto más amplio: las *indicaciones geográficas* (IG), incorporadas recientemente como figura de la propiedad intelectual (Craven, 2001). Estos

conceptos se definen y regulan de acuerdo con las diferentes legislaciones de ámbito nacional e internacional, pero en general, se refieren al *nombre de un lugar determinado, una región o un país, que se usa para designar un producto que es originario de ese lugar y que sus características o cualidades, su calidad o su prestigio se deben en parte o totalmente al medio geográfico donde se produce, transforma o fabrica, incluidos los factores humanos y naturales* (Granados, 2004).

En México este concepto engloba las denominaciones de origen y las marcas colectivas, ambas previstas en el Arreglo de Lisboa y contenidas en la Ley de la Propiedad industrial de México (1991) para la que una Denominación de Origen es el nombre de una región o lugar donde se genera un producto cuyas características y calidad dependen de la geografía física y humana del lugar (Álvarez *et al.*, 2005).

La marca colectiva (MC) no es explícitamente destinada a la protección de productos con calidad territorial, aunque en la práctica lo es desde que el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI) recomienda su uso a grupos de productores desde unos 5 años. En este sentido, el signo distintivo de la MC es *“destinado a distinguir el origen o cualquier otra característica común de productos, que han sido producidos o fabricados por un grupo de personas en una localidad, región o país”* (Granados, 2004).

La Marca Colectiva representa entonces una protección oficial que proporciona una ventaja competitiva para los productores, ya que permite que el consumidor

pueda diferenciar un producto genuino de una imitación, además de brindar calidad a los consumidores y un precio justo para los productores (Álvarez *et al.*, 2005).

La ley detalla los procedimientos para la atribución y el uso de las MC. El titular no es el Estado sino el grupo de productores o procesadores que la solicito (cooperativa, asociación de productores, etc.) y no se hace mención de una Norma Oficial Mexicana, pero de reglas de uso, definidas por el grupo que solicita la MC. La atribución de las DO y de las MC corresponde por derecho al IMPI (creada en 1993, en base a la ley de 1991, reformada en 1994 como Ley de Propiedad Industrial). Se encarga de los trámites, de la concesión de las DO y de las MC y, en el caso de las DO, de su reconocimiento internacional (registro) (Poméon, 2007).

2.3 El queso

De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana 243 (SSA-2010), el queso es un producto elaborado con la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras especies animales, con o sin adición de crema, obtenida por la coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas, ácidos orgánicos comestibles y con o sin tratamiento ulterior por calentamiento, drenada, prensada o no, con o sin adición de fermentos de maduración, mohos especiales, sales fundentes e ingredientes comestibles opcionales, dando lugar a

las diferentes variedades de quesos pudiendo por su proceso ser: fresco, madurado o procesado.

Gomes da Cruz *et al.* (2009) definen al queso como el nombre genérico para un grupo de fermentación productos lácteos los alimentos producidos en todo el mundo en una gran diversidad de sabores, texturas y formas.

Los quesos madurados, de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana 243, se caracterizan por ser de pasta dura, semidura o blanda, con o sin corteza; sometidos a un proceso de maduración mediante la adición de microorganismos, bajo condiciones controladas de tiempo, temperatura y humedad, para provocar en ellos cambios bioquímicos y físicos característicos del producto de que se trate, lo que le permite prolongar su vida de anaquel, los cuales pueden o no requerir condiciones de refrigeración y los quesos procesados son elaborados con mezclas de quesos, fusión y emulsión con sales fundentes, aditivos para alimentos permitidos e ingredientes opcionales, sometidos a proceso térmico de 70 °C durante 30 segundos o someterse a cualquier otra combinación equivalente o mayor de tiempo y temperatura, lo que le permite prolongar su vida de anaquel (SSA, 2010).

Farke (2004) clasifica a los quesos, como blandos, semi-blando (Semi-duro), duro o muy duro, dependiendo de su contenido de humedad. Aunque esta clasificación es arbitraria, ayuda a agrupar de forma sistemática quesos que son similares en

ciertos rasgos o características básicas (Por ejemplo, contenido de humedad), ya que la humedad determina el cuerpo, consistencia o compacidad de queso.

En México, la gran mayoría de los quesos tradicionales elaborados pueden considerarse frescos, pero también los hay ligeramente madurados como el de poro, el chihuahua y el tipo manchego, y madurados, dentro de los cuales se tiene al queso Cotija de la sierra Jalmich, el queso añejo de Zacazonapan y los quesos rancheros añejos secos (Cervantes *et al.*, 2008).

2.3.1 Método tradicional para la elaboración de queso.

Aunque la procedencia de la leche puede ser de diferentes especies animales, como oveja, cabra y búfalo, la mayor parte de los quesos que se consumen actualmente proceden de la leche de vaca. Un requisito para la elaboración de quesos es obtener leche de buena calidad sanitaria y fisicoquímica. También es necesario que el proceso de ordeña y todas las manipulaciones posteriores sean efectuadas en condiciones de higiene adecuadas.

A grandes rasgos, la elaboración de un queso implica tres procesos clave: la coagulación o cuajado de la leche, la deshidratación del coagulo o cuajada, y la maduración de ésta durante cierto tiempo, bajo condiciones ambientales específicas, según el tipo de queso (Cervantes *et al.*, 2008).

La coagulación y la deshidratación son operaciones imprescindibles en todos los tipos de queso aunque la pérdida de suero puede ser escasa o abundante. La deshidratación o secado del coagulo implica un conjunto de distintas operaciones que favorecen la expulsión del suero a partir del gel de fosfocaseinato de calcio en donde quedan atrapados agua, grasa butírica, microorganismos y otros componentes. Esas operaciones van desde el cortado del gel hasta el prensado, pasando por el trabajo de grano, el manejo de masa en tina y el salado (Cervantes *et al.*, 2008).

Una parte esencial del proceso de elaboración del queso es la conversión de un líquido, leche, en un material sólido, la cuajada, que contiene la caseína y la grasa de la leche, que ha expulsado la parte principal de agua, y por lo general, las proteínas de suero de leche. Esto se consigue mediante la adición de cuajo para coagular el gel de caseína. El requesón, forma la base del queso, que es modificada posteriormente por procesos tales como el prensado, salado y maduración (Gomes da Cruz *et al.*, 2009).

La producción de queso requiere la coagulación de la leche, en la mayoría de los casos a través de la acción de la quimosina sobre la k-caseína estérico capa estabilizadora de la micela de caseína. Aquí, la fabricación del queso es esencialmente un proceso de la deshidratación de la leche en combinación con otros efectos de conservación, tales como el cultivo, la acidificación, la salazón, el envasado y la refrigeración (Everett and Auty, 2008). El cuajo induce a la

coagulación de la leche, posteriormente se corta y se homogeniza para expulsar la humedad en un proceso llamado sinéresis (Grundelius *et al.*, 2000).

Muchos quesos necesitan de un tiempo adicional para lograr sus propias características sensoriales, en particular sabor y aroma. Para lograr este propósito, se mantienen en una sala especial, con control del medio ambiente condiciones por un tiempo determinado: este proceso se denomina maduración y el producto final se llama queso curado (Everett and Auty, 2008).

Villegas (2003) representa la principal secuencia de fabricación de quesos mexicanos elaborados por cuajado enzimático (cuajo de renina u otra enzima) de la siguiente manera.

1. Recepción de leche
2. Cuajado enzimático.
3. Corte de gel
4. Trabajo de grano.
5. Desuerado.
6. Manejo adecuado de la cuajada (según el tipo de queso a elaborar).
7. Producto final: Quesos de pasta prensada, no texturizada, madurada (v.g. Cotija, añejo).

2.3.2 Cambios fisicoquímicos en el proceso de maduración de los quesos.

La maduración de quesos es un proceso en el cual ocurren numerosas reacciones bioquímicas, sobre las proteínas, la materia grasa y la lactosa, responsables de importantes cambios en la textura y en las características sensoriales, que conducen a determinar la tipicidad de cada producto (Fox *et al.*, 1993).

Dentro de los procesos bioquímicos se incluyen la proteólisis, lipólisis y la glucólisis. La proteólisis es el principal y más complejo de estos eventos (Fox, 1989; Grappin and Beuvier, 1997) y en muchas variedades de quesos, el evento bioquímico más importante durante la maduración (Pappa and Sotirakoglou, 2008).

El patrón de la proteólisis se puede resumir de la siguiente manera: las caseínas son hidrolizadas inicialmente por la actividad residual del coagulante retenido en la cuajada y por la plasmina y tal vez por otras enzimas proteolíticas indígenas en una serie de péptidos de tamaño intermedio, que son hidrolizados por proteasas y peptidasas de las bacterias ácido lácticas (BAL) iniciadoras, BAL no iniciadoras y por la microflora secundaria, péptidos cortos y aminoácidos (Upadhyay *et al.*, 2004).

Christensen *et al.* (1995) refieren que las diferencias en las concentraciones de aminoácidos en un queso están relacionados con la tecnología de fabricación (tipo de requesón, adición de iniciadores, las condiciones de maduración), la duración

de la maduración y así como el grado y tipo de proteólisis. Ciertos aminoácidos libres son extremadamente importantes en el sabor y el desarrollo del gusto, por ejemplo, el aminoácido ARG está relacionado con amargura, mientras que los aminoácidos PRO, SER y ASN están relacionados con dulzura (Izco and Torre, 2000).

Aunque la contribución directa de los aminoácidos libres a los sabores típicos quesos son algo limitadas, están asociadas con la fracción volátil de los quesos (Salles *et al.*, 2000) debido a que son precursores de muchos compuestos aromáticos volátiles (por ejemplo, aminas, ácidos carboxílicos, tioles, ésteres, alcoholes, aldehídos y tioésteres).

2.3.3 Cambios microbiológicos en el proceso de maduración de los quesos.

Durante la maduración de los quesos ocurren cambios bióticos y abióticos en el queso que influyen de manera directa sobre la microbiota presente. Se pierde humedad, se promueve el aumento de acidez debido al desarrollo y actividad microbiana, lo que limita el crecimiento de otros microorganismos, como los coliformes, cuya cantidad disminuye totalmente poco después de los 50 días de haber sido elaborado el queso (Bravo *et al.*, 2007).

Durante la fabricación y la maduración de los productos lácteos, ocurren cambios dinámicos de la microflora, constituida principalmente por bacterias ácido lácticas (BAL), mismos que contribuyen en las características organolépticas del producto final (Caplice and Fitzgerald, 1999).

Muchos informes acerca de los productos lácteos tradicionales han demostrado que tienen micro flora única y diferente la cual depende de la tecnología de producción utilizada, así como de la localidad ecológica donde se producen (Beukes *et al.* 2001; Mathara *et al.*, 2004; Chammas *et al.*, 2006; Zamfir *et al.*, 2006; Dewan and Tamang, 2007).

2.3.4 Porque evaluar los quesos tradicionales.

Su elaboración se realiza con leche sin pasteurización, lo que permite que la cuajada se forme con la microflora presente en el ambiente, la leche y en el cuajo añadido, práctica que no cumple con lo establecido en la norma oficial mexicana 243 (SSA, 2010). Su proceso de manufactura no es uniforme y su elaboración varía según la localidad y tradición (Villegas, 2000). Pueden presentar grupos de microorganismos patógenos, su presencia o ausencia en queso depende de la calidad y del tratamiento térmico de la leche, la limpieza en general de la quesería, la calidad de los cultivos, del manejo de la cuajada durante el procesamiento, de la temperatura de almacenamiento, transporte y distribución del queso (Farkye, 2002; Robinson y Tamime, 2002), no obstante, los alimentos también se pueden

contaminar en los distintos eslabones de la cadena alimentaria, incluidos los hogares y expendios de alimentos preparados para el consumo (Mercado, 2007).

Pueden ser causantes de enfermedades por transmisión de alimentos (ETA's) resultado de la ingestión de alimentos y/o agua contaminados en cantidades suficientes como para afectar la salud del consumidor. Aunque la mayoría son leves y se asocian a síntomas gastrointestinales agudos tales como diarreas y vómito, en algunas ocasiones la ETA es mucho más severa y peligrosa para la vida, especialmente en niños, y la infección puede causar enfermedades crónicas (Rojas-Herrera y González, 2006).

Los agentes contaminantes pueden ser: agentes biológicos (bacterias y/o sus toxinas, hongos, virus, parásitos), agentes químicos (plaguicidas, fertilizantes, veneno, etc.), agentes físicos (metales, vidrio, madera, etc), de los cuales la contaminación bacteriana suele ser la más recurrente (Barrios, 2006).

Entre las bacterias patógenas mas peligrosas presentes en los alimentos están: *Salmonella*, *E. coli* y *Listeria*, estas bacterias perjudiciales pueden afectar gravemente la salud de cualquier persona que beba leche sin pasteurizar o que consuma alimentos elaborados con este tipo de leche; puede producir enfermedades infecciosas que incluyen la listeriosis, brucelosis, salmonelosis y tuberculosis, entre muchas otras (Araya *et al.*, 2008; Vanegas *et al.*, 2008; Albarracin *et al.*, 2008).

La diversidad biológica de las bacterias implicadas en la producción de queso puede ser considerado un factor fundamental para el mantenimiento de las características típicas de los quesos tradicionales. Recientes investigaciones han

demostrado que la microflora indígena de la leche cruda influye en las características bioquímicas y de sabor de los quesos (Marino *et al.*, 2003).

2.4 Ejemplo de caso: Queso Cotija Región de Origen (QCRO)

El QCRO es un producto que se ha elaborado de manera artesanal desde hace más de 400 años. Su producción ha representado el sustento económico de las familias que lo producen, las cuales se han visto afectadas por la aparición de las grandes industrias productoras de quesos con las que no pueden competir por no contar con la tecnología, monto de producción e infraestructura necesarios. Además, el factor preponderante ha sido la competencia desleal de productores de quesos importados o de imitación lo cual ha ocasionado que varias rancherías productoras dejen de producirlo (Villegas, 2000).

En el año 2005, los productores de la región de Jalmich crearon una asociación llamada Asociación Regional de Productores de Queso Cotija mediante la cual han logrado obtener la Marca Colectiva (MC) para el queso que se elabora en esta región, bajo la figura legal de la Sociedad de Producción Rural, por parte del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI) (Álvarez *et al.*, 2005).

Sin embargo, la MC no reserva y protege el uso del término “Cotija”, es por ello que, hoy día la Asociación Regional de Productores de Queso Cotija lucha por obtener la Denominación de Origen (DO) para diferenciar legalmente el producto auténtico de los quesos “*tipo Cotija*”, además de ayudar a los productores a conservar la tradición en la elaboración del mismo combatiendo la piratería y

extendiendo su distribución para llegar a nuevos mercados nacionales e internacionales como ha sucedido con el Tequila (Jalisco, Nayarit, Tamaulipas, Michoacán y Guanajuato); mezcal (Guerrero, Oaxaca, Durango, Zacatecas y San Luis Potosí), café de Veracruz (Veracruz), bacanora (Sonora) y sotol (Chihuahua), entre otros productos registrados en el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI) (Hernández *et al.*, 2009).

Es importante destacar que el QCRO es un buen candidato para obtener la denominación de origen ya que posee propiedades sensoriales y de composición únicas debido a las características de la materia prima, condiciones de producción, especificidad geográfica y aspectos culturales y sociales del producto que han perdurado por generaciones (Hernández-Briones, 2007).

Hoy en día existen diversos estudios sobre el queso Cotija los cuales han proporcionado información muy valiosa en torno a su caracterización microbiológica, química y sensorial. Entre los estudios que se han realizado hasta ahora sobre el queso Cotija se encuentran el análisis proximal y fisicoquímico (Hernández-Briones, 2007; Utrera, 2007; Bravo, 2008). De la calidad microbiológica del queso y la no presencia de hongos (García, 2006; Hernández, 2007; Bravo, 2008). Identificación de bacterias lipolíticas (García, 2006), bacterias proteolíticas (Hernández, 2007) y bacterias lácticas (Bravo, 2008). Las características sensoriales del QCRO, también han sido evaluadas (Utrera, 2007).

Lo anterior es de gran relevancia ya que dicha información podría ser empleada como uno de los elementos clave para obtener, en un futuro, la denominación de origen de este producto tradicional (Hernández *et al.*, 2009).

III. JUSTIFICACIÓN

En el sur del estado de México se produce un queso semimadurado que es tradicional de la zona, el cual es conocido como “Queso Añejo Zacazonapan”, es uno de los productos representativos del estado de México en cuanto a quesos semimadurados se refiere y es considerado en el Atlas de los quesos mexicanos genuinos como candidato a la obtención de la denominación de origen, desafortunadamente, este queso se produce en forma artesanal, se produce con leche cruda y cuajo natural. Situación que incumple los lineamientos de la Norma Oficial Mexicana (NOM) 243, que establece que los quesos deben ser elaborados con leche pasteurizada y no con leche cruda. Sin embargo, esta norma no considera la elaboración de quesos madurados.

Para poder promover y defender a los quesos mexicanos genuinos e incluso acceder a una marca colectiva o denominación de origen, es necesario presentar una garantía a los consumidores de que se han producido quesos de acuerdo a los reglamentos de la producción local de leche y técnicas de elaboración así como del proceso de maduración (Innocente, 1997). Por lo tanto, es necesario tener prácticas de manufactura estandarizadas y conocer las características finales del producto, las cuales se pueden lograr después de una comprensiva e integrada caracterización de los perfiles químicos, microbiológicos y sensoriales del producto. Por lo anterior, es necesario tipificar fisicoquímicamente al queso Zacazonapan, determinar los parámetros microbiológicos y establecer métodos

para definir y controlar las características cualitativas del mismo a fin de asegurar las opciones de los consumidores.

IV. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

- ¿Cuál es la zona donde se produce el queso Zacazonapan?
- ¿Cuáles son las características fisicoquímicas y microbiológicas propias del queso Zacazonapan que pueden ayudar en su tipificación y cual es su proceso de elaboración?

V. HIPOTESIS

Las características fisicoquímicas y microbiológicas del queso añejo de Zacazonapan, le proporciona atributos propios que lo hacen diferente de otros quesos similares.

VI. OBJETIVOS

GENERAL:

- Localizar la producción del queso añejo de Zacazonapan y llevar a cabo su caracterización fisicoquímica y microbiológica y determinar la sanidad del entorno de fabricación del queso.

ESPECIFICOS:

- Localizar y describir la producción de leche y queso añejo de Zacazonapan en el sur del estado de México.
- Describir el proceso de producción del queso añejo de Zacazonapan en queserías del municipio de Zacazonapan.
- Determinar la calidad fisicoquímica del queso añejo de Zacazonapan en las queserías donde se observó el proceso de producción.
- Identificar el grado de contaminación por mohos y levaduras, bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales como indicadores de calidad e higiene en el entorno de fabricación del queso añejo de Zacazonapan.
- Describir la evolución de los parámetros fisicoquímicos durante la maduración del queso añejo de Zacazonapan en dos épocas del año.

- Describir la evolución microbiológica de mohos y levaduras, estafilococos, coliformes totales y fecales, salmonella y listeria durante la maduración del queso añejo de Zacazonapan en dos épocas de producción.

VII. MATERIALES Y MÉTODO.

7.1 Zona de estudio.

El trabajo se realizó en el sur del estado de México en los municipios de Temascaltepec, Sultepec, Tejupilco, Amatepec pero principalmente en el municipio de Zacazonapan, ubicado entre los paralelos 19° 00' 17" y 19° 16' 17" de latitud norte y del meridiano 100° 12' 55" al meridiano 100° 18' 13" de longitud oeste. A una altura media de 1,470 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte con el municipio de Oztoloapan, al sur con Tejupilco; al este con Temascaltepec y Valle de Bravo y al oeste con Oztoloapan (Arroyo, 1999).

El territorio municipal tiene una extensión de 67.14 kilómetros cuadrados que representan el 0.30% de la superficie estatal. Los tipos de suelos son el feozem, vertisol, luvisol, acrisol y litosol. De las 6,714 hectáreas que componen el municipio, 1588 son de uso agrícola, 4061 pecuario, 986 forestal y 79 con otros usos.

La orografía del municipio es sierra compleja con cañadas y lomeríos pertenecientes a la subprovincia fisiográfica de la sierra madre del sur, como ejemplos notables de orografía se tienen los cerros de La Pila, Sombrero, Pelón, entre otros.

Al norte del municipio se localizan elevaciones importantes como El Xomil, Peña Colorada, Peñas del Fraile y parte de la cuesta. Es importante mencionar a la

Peña Sola y Los Tres Reyes, que aunque no pertenecen al municipio, se identifican con él.

Según la clasificación de Köppen, modificada por García (1981), el clima es Semicalido subhúmedo con lluvias en verano y una precipitación menor a 5 % en invierno A(C)W2(W)(1)g. La temperatura media anual es de 23° C, la máxima anual de 31°C y la mínima anual de 15°C. La precipitación es de 1041.8 milímetros anuales, presentándose vientos en mayo y esporádicamente en agosto y septiembre.

La flora es muy variada, existen especies como el pino que se localizan a mayor altitud, en forma descendente se encuentran asociaciones de pinos con encinos; después, vegetación propia de los bosques de pino-encino y selva baja y bosques mixtos de árboles con leguminosas. Sin embargo, la vegetación original ha sido transformada por la práctica ganadera, en la mayor parte de los llanos y altiplanos que se ubican en el municipio.

En referencia a la fauna, existe una gran diversidad, se encuentran: ardilla, armadillo, comadreja, conejo, coyote, mapache, águila, aura, pájaro carpintero, corre caminos, huilota, tecolote, tórtola, codorniz, zopilote, rana, sapo, culebra verde, tortuga, escorpión, lagartijas, víboras, coralillo, cascabel, mojarra criolla, charales, bagre, carpa, alacrán, tarántula, arañas y ciempiés.

7.2 Localización y descripción de la producción del queso añejo de Zacazonapan.

Para localizar y describir la zona de producción del queso añejo de Zacazonapan en la región sur del Estado de México, se tuvo un primer acercamiento con autoridades del municipio de Zacazonapan y con productores de queso (informantes clave) donde se observó el proceso de elaboración del queso y se obtuvieron detalles para poder diferenciarlo de otros quesos producidos en la región. Posteriormente, de acuerdo a la metodología de bola de nieve (Goodman, 1961), se visitaron los lugares donde los informantes sabían que se produce queso añejo de Zacazonapan (conocido también como “Queso Refregado” en referencia al proceso de molienda y lo tardado que es su elaboración) se observaba el proceso de elaboración para verificar que era el mismo ya que en la zona se produce otro queso maduro que se conoce como “queso de prensa”. Una vez que se confirmaba que era el mismo procedimiento del queso añejo o “refregado” de Zacazonapan se referenciaba geo-espacialmente con un sistema de posicionamiento global (GPS) marca Garmin modelo Etrex vista los lugares donde se produce la leche y donde se elabora el queso. Las referencias geo-espaciales de cada quesería y potrero se sobrepusieron en un mapa de la carta de uso actual de suelo y vegetación del Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI, 2005). De acuerdo a los lugares visitados y a las bases de datos del INEGI se describió la zona de producción del queso añejo de Zacazonapan tomando en cuenta factores geográficos como topografía, clima, altitud, precipitaciones medias anuales, agronómicos como vegetación y tipo de suelo y los actores sociales que participan en el proceso.

7.3 Descripción del proceso de elaboración del queso añejo de Zacazonapan

La descripción del proceso de elaboración del queso y la obtención de muestras de queso añejo se llevó a cabo en el municipio de Zacazonapan, estado de México.

El proceso de elaboración artesanal del queso se observó directamente en cuatro casos de estudio en el municipio de Zacazonapan, se realizaron dos visitas a cada quesería durante el periodo de elaboración (julio a noviembre de 2010). La secuencia y tiempos de las operaciones de elaboración del queso fueron observadas y registradas elaborando finalmente el diagrama de flujo del proceso de elaboración del queso añejo de Zacazonapan.

7.4 Determinación de los parámetros fisicoquímicos del queso añejo de Zacazonapan

En noviembre de 2010 se tomaron dos muestras de quesos con 120 días de maduración, siguiendo los procedimientos de la norma oficial mexicana (NOM) 109 (DOF, 2010) las muestras obtenidas fueron colocadas en contenedores estériles cerrados y transportadas a 4°C para su posterior análisis en laboratorio.

Siguiendo los métodos de la AOAC (2005), se determinó el contenido de humedad (método 926,08), el contenido de grasa con el método Soxhlet por extracción con éter (método 960,39), la proteína por el método Kjeldhal (método 920,123) donde el contenido de nitrógeno se multiplicó por 6,38 para convertirlo a proteína cruda.

Las cenizas por incineración de la muestra en una mufla a 550°C por 4 horas (método 935,42), se usó un potenciómetro Orion 520 A para medir pH, el contenido de sal (NaCl) se determinó por el método de Volhard (método 935,43). Todos los análisis se realizaron por duplicado. Se hizo uso de estadística descriptiva para presentar los resultados con su respectiva desviación estándar.

7.5 Grado de contaminación e higiene en el entorno de fabricación del queso añejo de Zacazonapan.

Siguiendo las recomendaciones del PROYECTO de NOM 109 (SSA, 1994), se tomaron muestras con hisopos de algodón esterilizados de utensilios y manos de los queseros, también muestras de agua, leche y queso en cinco queserías del municipio de Zacazonapan; todas las muestras se transportaron en contenedores estériles cerrados a 4°C para su posterior análisis de laboratorio. En laboratorio las muestras se prepararon mediante el método de diluciones en agua peptonada siguiendo las recomendaciones de la NOM 110 (SSA, 1994).

Análisis realizados

La presencia de mohos y levaduras (M&L) se determinó con la NOM 111 (SSA, 1994), a través del conteo en placa con agar papa dextrosa después de la incubación a 25°C por 48h. Las bacterias mesófilas aerobias (BMA) de acuerdo a la NOM 092 (SSA, 1994) usando agar triptona con extracto de levadura incubado a 35°C por 48h. Los coliformes totales (CT) en placa de acuerdo con la NOM 113 (SSA, 1994) usando agar bilis rojo violeta y la incubación a 35°C por 24h. La presencia de salmonela (S) en queso bajo NOM 114 (SSA, 1994) en agar Salmonella Shigella incubados por 48h a 35°C.

Análisis estadístico

Los resultados de los análisis microbiológicos realizados se transformaron a \log_{10} UFC/g o mL, y se analizaron bajo dos experimentos. En el primero, se comparó el material de fabricación de los utensilios (plástico, madera, metal y material mineral), y en el segundo se analizó la calidad del producto final y los insumos (leche, cuajo, suero y queso).

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar en ambos casos mediante el siguiente modelo general lineal:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable respuesta

μ = media general de cada parámetro

τ_i = material (plástico, piedra, metal, madera); muestra (leche, cuajo, suero y queso)

ϵ_{ij} = error residual

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) utilizando el comando del modelo general lineal del software estadístico Statgraphics v16 (Statgraphics, 2014).

Cuando se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) se aplicó la prueba de LSD.

7.6 Evolución fisicoquímica durante la maduración del queso añejo de Zacazonapan bajo condiciones ambientales, en dos épocas de producción

En noviembre de 2010 y septiembre de 2011 antes de comenzar con la elaboración del queso se tomaron muestras de leche de cada sitio de producción y al término de la producción se adquirieron dos piezas de queso fresco de aproximadamente 2 kg, los quesos se llevaron a una quesería de la zona y se dejaron madurar por 150 días de la forma tradicional, es decir, sin controlar la humedad relativa y la temperatura.

De cada pieza de queso, se tomaron dos muestras en los siguientes tiempos: 0, 30, 60, 120 y 150 días de maduración mismas que se obtuvieron con un sacabocados. Una vez tomada la muestra, se utilizó cera de Campeche para sellar los huecos del lugar donde se tomó la muestra.

Todas las muestras de leche y queso se tomaron siguiendo los procedimientos de la NOM 109 (SSA, 1994). Las muestras obtenidas fueron colocadas en contenedores estériles cerrados y transportadas a 4°C para su posterior análisis en laboratorio.

Análisis fisicoquímico

Siguiendo los métodos de la AOAC (2005), se determinó el contenido de humedad (método 926,08), el contenido de grasa con el método Soxhlet por extracción con éter (método 960,39), la proteína por el método Kjeldhal (método 920,123) donde el contenido de nitrógeno se multiplicó por 6,38 para convertirlo a proteína cruda. Las cenizas por incineración de la muestra en una mufla a 550°C por 4 horas (método 935,42), se usó un potenciómetro Orion 520 A para medir pH, el

contenido de sal (NaCl) se determinó por el método de Volhard (método 935,43). Todos los análisis se realizaron por duplicado.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar para comparar los tiempos de maduración (0, 30, 60, 120 y 150 días) de cada época evaluada; así como también para comparar la maduración entre épocas (secas y lluvias). Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza utilizando el comando del modelo general lineal del software estadístico Minitab V.14 (2003). Cuando se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) se aplicó la prueba de Tukey.

7.7 Evolución microbiológica durante la maduración del queso añejo de Zacazonapan bajo condiciones ambientales en dos épocas de producción.

Se observaron los cambios en los niveles de los principales grupos microbianos durante la maduración ambiental del queso añejo de Zacazonapan en dos épocas de producción. Al final de la época de producción de queso de noviembre de 2010 a mayo de 2011 (época de secas) con siete productores de queso y al inicio de la época de producción de queso de septiembre de 2011 a febrero de 2012 (época de lluvias) con cinco productores de los siete anteriores.

En noviembre de 2010 y septiembre de 2011 antes de comenzar con la elaboración del queso se tomaron muestras de leche de cada sitio de producción y al término de la producción se adquirieron dos piezas de queso fresco de aproximadamente 2 kg, los quesos se llevaron a una quesería de la zona y se dejaron madurar por 150 días de la forma tradicional, es decir, sin controlar la humedad relativa y la temperatura.

De cada pieza de queso, se tomaron dos muestras en los siguientes tiempos: 0, 30, 60, 120 y 150 días de maduración mismas que se obtuvieron con un sacabocados. Una vez tomada la muestra, se utilizó cera de Campeche para sellar los huecos del lugar donde se tomó la muestra.

El manejo de muestras, los análisis microbiológicos realizados, y las referencias de los límites máximos permitidos en la legislación mexicana, se siguieron de acuerdo con la Secretaría de Salud, mediante las normas oficiales mexicanas (NOM), publicadas en el Diario Oficial de la Federación (DOF).

Todas las muestras de leche y queso se tomaron siguiendo los procedimientos de la NOM 109 (SSA, 1994). Las muestras obtenidas fueron colocadas en contenedores estériles cerrados y transportadas a 4°C para su posterior análisis en laboratorio.

Preparación de muestras

Para determinar mohos y levaduras, 10 g de queso y 10 mL de leche de cada muestra obtenida se homogenizaron en 90 mL of agua peptonada al 0.1%,

siguiendo las recomendaciones de la NOM 110 (SSA, 1994) para preparación de muestras, se hicieron diluciones decimales hasta obtener la dilución 10^{-7} .

Para determinar mesófilos, estafilococos, coliformes, *Salmonella* spp. y *Listeria* spp., 25 g de queso y 25 mL de leche de cada muestra fueron homogenizados en 225 mL de agua peptonada al 0.1%; siguiendo las recomendaciones de la NOM 110 (SSA, 1994), se realizaron diluciones decimales hasta obtener la dilución 10^{-7} .

Análisis microbiológicos

La presencia de mohos y levaduras fueron determinadas bajo NOM 111 (SSA, 1994), mediante el conteo en placa con agar papa dextrosa después de incubación a 25°C por 48h, mesófilos aerobios de acuerdo a la NOM 092, utilizando agar triptona-extracto de levadura incubando a 35°C por 48h y coliformes totales en plato de acuerdo a la NOM 113 (SSA, 1994) mediante agar rojo violeta bilis después de incubación a 35°C por 24h.

La presencia de coliformes fecales se determinó mediante la técnica del número más probable siguiendo la NOM 112 (SSA, 1994), utilizando caldo lauril sulfato triptosa, después de incubar a 35°C por 24h. *Staphylococcus* spp. de acuerdo a la NOM 115 (SSA, 1994), mediante agar Baird-Parker con la adición de telurito de yema de huevo y la incubación a 37°C por 48h después del crecimiento. Análisis presuntivos para *Salmonella* spp. bajo NOM 114 (SSA, 1994) en agar Salmonella Shigella incubados por 48h a 35°C sin realizar la confirmación de este género y *Listeria* spp. de acuerdo a NOM 143 (SSA, 1994) se incubó a 35°C por 48h en

agar oxford sin realizar confirmación o aislamiento. Cada muestra se evaluó por duplicado.

Análisis estadístico


Se utilizó un diseño experimental completamente al azar para comparar los tiempos de maduración (0, 30, 60, 120 y 150 días) de cada época evaluada; así como también para comparar la maduración entre épocas (secas y lluvias). Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza utilizando el comando del modelo general lineal del software estadístico Minitab V.14 (2003). Cuando se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) se aplicó la prueba de Tukey. Para realizar este análisis, los datos fueron transformados a \log_{10} .

VIII. RESULTADOS

8.1 Capítulo de libro

8.1.1 Portada del libro y registro

**ESTUDIOS SOCIOECONÓMICOS Y
AMBIENTALES DE LA GANADERÍA**



Coordinadores
Beatriz A. Cavallón Vázquez
Eduardo Ramírez Valverde
Alfredo Casas Vargas
Javier Ramírez Juárez

• ISBN Libro Electrónico "Estudios socioeconómicos y ambientales de la ganadería" *

Congreso Socioeconomía pecuaria <cisocpec@yahoo.com.mx> mar 16 a las 11:17 AM.
Para Congreso Socioeconomía pecuaria

Estimado (a) Investigador (a)

Se le envía este correo para informarle que el Libro Electrónico titulado "Estudios socioeconómicos y ambientales de la ganadería" en el cual usted es autor de un artículo, ya se encuentra registrado con el **ISBN 978-607-12-0417-2**.

Saludos cordiales.

Atentamente

Beatriz Nava Moreno
Lic. Informática Administrativa

IV Congreso Internacional y XV Congreso Nacional de Investigación Socioeconómica y Ambiental de la Producción Pecuaria.
Centro de Negocios, Universidad Autónoma de Querétaro.
20, 21 y 22 de Octubre, 2015.
Informes: 01 (595) 95 21 500. Extensión 5078 o 5278
Pag. web: <http://www.consocpec.com.mx>

8.1.2 Diagnóstico de la calidad sanitaria en las queserías artesanales del municipio de Zacazonapan, estado de México y del producto final.

Diagnóstico de la calidad sanitaria en las queserías artesanales del municipio de Zacazonapan, estado de México y del producto final.

Jair Jesús Sánchez Valdés¹, Vianey Colín Navarro², Felipe López González¹, Francisca Avilés Nova², Octavio Alonso Castelán Ortega³, Julieta Gertrudis Estrada-Flores¹.

¹Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales; ² Centro universitario Temascaltepec, ³ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto Literario No. 100, Colonia Centro. CP. 50000. Toluca, México.

Introducción

En México, como en otros países en desarrollo, a la par con la economía del estado existe una economía informal vinculada a la utilización de recursos genéticos locales, entre cuyas actividades se encuentra la venta de alimentos en la vía pública. Esta forma de ofrecer los alimentos a los consumidores puede ser de alto riesgo sanitario, se incrementa el riesgo de contraer enfermedades transmitidas por alimentos, ya que las condiciones en que se expenden dichos productos no son apropiadas, porque favorecen la contaminación microbiológica. Los productos artesanales por su tradición y el compendio de características sensoriales que poseen, gozan de una alta aceptación entre la población Mexicana (Resendiz *et al.*, 2012). La producción artesanal de quesos en México es muy variada, se conocen al menos 40 diferentes tipos de queso destacando la

producción de quesos frescos pero también se conoce de la producción de quesos maduros como el queso Cotija de la sierra de JALMICH, el queso de adobera, el queso maduro de Veracruz y el queso de Zacazonapan (fresco y maduro), en el sur del estado de México (Villegas de Gante y Cervantes, 2011).

El queso artesanal se elabora a partir de leche cruda por lo general de vacas criollas, con fermentación espontánea y corta maduración usando metodologías muy rudimentarias, no estandarizadas. Dentro de la gama de productos lácteos elaborados, el queso fresco es el que cuenta con mayor número de microorganismos patógenos al momento de ser comercializado. Por esta razón se le asocia con mayor frecuencia con brotes de intoxicaciones alimentarias (Caballero *et al.*, 1998).

En los quesos frescos, los hongos representan una forma de alteración (Lück, 1990), su crecimiento origina problemas de tipo comercial (producen olores indeseables, cambios en la textura y en el interior de los quesos lo que se traduce en pérdida de categoría e incluso en el rechazo total del producto) y de tipo sanitario por la posible producción de metabolitos tóxicos (Taniwaki *et al.*, 1992).

Los microorganismos contaminantes, que representan riesgo a la salud humana, que generalmente están presentes en derivados lácteos son *Escherichia coli* O157:H7 y otros coliformes fecales, *Clostridium botulinum*, *C. perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* tipo emético, *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella sp.*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, entre otras (González y Rojas, 2005). Su presencia en queso depende de la calidad y del tratamiento térmico de la leche, la limpieza en general de la quesería, la calidad de los cultivos, del manejo de la cuajada durante el

procesamiento, de la temperatura de almacenamiento, transporte y distribución del queso (Farkye, 2002). No obstante, los alimentos también se pueden contaminar en los distintos eslabones de la cadena alimentaria, incluidos los hogares y expendios de alimentos preparados para el consumo (Mercado, 2007).

En el caso del queso producido en Zacazonapan, las características propias del queso de esta zona, así como las condiciones que prevalecen en las queserías hacen que este producto sea un sustrato ideal para el desarrollo de microorganismos que puedan causar intoxicaciones en el consumidor.

Por lo anterior, en este trabajo se identifica el grado de contaminación por Mohos y levaduras (**M&L**), Bacterias mesófilas aerobias (**BMA**), Coliformes totales (**CT**) y Salmonella (**S**) como indicadores de calidad e higiene en el entorno de fabricación del queso de Zacazonapan.

Material y Métodos

Zona de estudio

Este estudio se llevó a cabo en cinco queserías del municipio de Zacazonapan, localizado entre los paralelos 19° 00' 17" y 19° 16' 17" de latitud norte y entre los meridianos 100° 12' 55" y 100° 18' 13" de longitud oeste, a una altura de 1470 m.s.n.m., la temperatura media anual es de 23°C, con una precipitación de 1041.8 mm al año (García, 1981).

Toma y Preparación de Muestras

El manejo de muestras, los análisis microbiológicos realizados, y las referencias de los límites máximos permitidos en la legislación mexicana, se siguieron de

acuerdo con la Secretaría de Salud, mediante las normas oficiales mexicanas (NOM), publicadas en el Diario Oficial de la Federación (DOF).

Siguiendo las recomendaciones del PROYECTO de NOM 109 (DOF, 2010), se tomaron muestras con hisopos de algodón esterilizados de utensilios y manos de los queseros, también muestras de agua, leche y queso; todas las muestras se transportaron en contenedores estériles cerrados a 4°C para su posterior análisis de laboratorio. En laboratorio las muestras se prepararon mediante el método de diluciones en agua peptonada siguiendo las recomendaciones de la NOM 110 (DOF, 2010).

Análisis realizados

La presencia de **M&L** se determinó con la NOM 111 (DOF, 2010), a través del conteo en placa con agar papa dextrosa después de la incubación a 25°C por 48h. Las **BMA** de acuerdo a la NOM 092 (DOF, 2010) usando agar triptona con extracto de levadura incubado a 35°C por 48h. Los **CT** en placa de acuerdo con la NOM 113 (DOF, 2010) usando agar bilis rojo violeta y la incubación a 35°C por 24h. La presencia de **S** en queso bajo NOM 114 (DOF, 2010) en agar Salmonella Shigella incubados por 48h a 35°C.

Análisis estadístico

Los resultados de los conteos se transformaron a Log_{10} para presentar los valores en unidades logarítmicas formadoras de colonias (**ULFC**).

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar para comparar las muestras de leche, cuajo, suero y queso, con el siguiente modelo general lineal:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable respuesta

μ = media general de cada parámetro

T_i = muestra (leche, cuajo, suero y queso)

ϵ_{ij} = error residual

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) utilizando el comando del modelo general lineal del software estadístico Statgraphics v16 (Statgraphics, 2014). Cuando se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) se aplicó la prueba de LSD.

Resultados

En el Cuadro 1 se muestran los resultados de los análisis realizados al agua utilizada para la limpieza en la quesería así como la limpieza de las manos de la persona que elabora el queso.

Cuadro 1. Conteos realizados a agua y manos (Promedio \pm D.E.)

Muestra	M&L	BMA	CT
(ULFC/g ó ml)			
Agua	3.50 \pm 3.21	5.10 \pm 2.96	1.25 \pm 2.80
Manos	5.07 \pm 2.84	4.99 \pm 2.80	3.66 \pm 3.35

M&L: mohos y levaduras, BMA: bacterias mesófilas aerobias, CT: coliformes totales, ULFC/g ó ml: unidades logarítmicas formadoras de colonias por gramo o mililitro. D.E.: Desviación estándar.

Fuente: elaboración propia.

El agua usada es de manantial que se lleva a las queserías a través de poliductos pero sin recibir tratamiento de potabilización, en las queserías se almacena en pilas de cemento que están ubicadas afuera del lugar donde el queso es

elaborado, los utensilios se lavan con esta agua y es la misma que usan para lavar la ropa. La NOM 251 (DOF 2010) señala que el agua que esté en contacto directo con alimentos, materias primas, superficies, debe ser potable, el límite permisible de cloro residual libre debe ser de 0.2 a 1.5 mg/l, los organismos coliformes totales o fecales deben estar ausentes o no detectables de acuerdo a la NOM 127 (DOF, 2010) se observa que no se cumple con la normatividad, por lo que se recomienda utilizar cloro para solucionar esta situación.

El apartado 5.12.4 de la NOM 251 (DOF, 2010) señala la manera correcta de realizar el lavado y desinfección de las manos del personal que está en contacto directo con los alimentos. Por el contrario, al momento de realizar las visitas a las queserías se observó que las queseras no realizan bien esta actividad y lo hacen con el agua de la pila, no utilizan tampoco alcohol o algún desinfectante antes de comenzar a trabajar en la elaboración del queso. Al ser una actividad complementaria, las queseras realizan a la par de la elaboración del queso las labores propias del hogar, es decir lavan ropa, preparan los alimentos para la familia, realizan la limpieza de la casa. Sin embargo, solo una quesera si desinfectaba el agua y sus manos antes de comenzar la elaboración del queso.

En el Cuadro 2 se muestran los resultados de los análisis realizados a las superficies de los utensilios que entran en contacto con el queso durante la elaboración. Durante la visita a las queserías se observó que no todas las queseras utilizan los mismos utensilios durante el proceso de elaboración del queso, por lo que los resultados se presentan mediante estadística descriptiva.

Cuadro 2. Conteos realizados a superficies de utensilios

Superficie muestreada	M&L	BMA	CT
(ULFC)		(Promedio ± D.E.)	
Cubeta/bote	2.16±3.74	6.55±0.55	2.00±3.46
Mesa de trabajo	6.13±1.74	4.82±4.22	4.70±4.21
Cuchillo	5.88±1.07	6.12±1.09	3.86±3.53
Piedra	0.00±0.00	2.85±3.29	0.00±0.00
Charola/tina	0.00±0.00	2.87±4.05	0.00±0.00
Colador queso a	4.35±3.83	3.15±3.65	1.62±3.25
Colador queso b	6.44±0.53	2.54±4.40	4.66±4.12
Cuchara	0.00±0.00	3.70±3.24	0.00±0.00
Jarro	0.00±0.00	1.02±2.95	0.00±0.00
Chiquihuite	3.54±5.00	6.23±1.38	3.46±4.89
Molino	3.13±4.42	0.00±0.00	0.00±0.00
Metate	2.05±3.54	2.13±3.70	0.00±0.00
Mano metate	1.81±3.14	1.81±3.14	0.00±0.00
Molde aro de PVC	6.52±0.49	6.16±0.35	6.73±1.14
Molde madera	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Promedio ± D. E.	2.80±2.56	3.33±2.24	1.80±2.29

M&L: Mohos y levaduras, BMA: Bacterias mesófilas aerobias, CT: Coliformes totales, ULFC: Unidades logarítmicas formadoras de colonias. PVC: Policloruro de vinilo, D.E.: Desviación estándar.

Fuente: elaboración propia.

Destaca el material con el que están elaborados los utensilios, por ejemplo, las charolas/tinas, cubeta/bote, cucharas, coladores y el aro para queso son de plástico común (no de grado alimenticio); el cuchillo es de acero, se tienen

utensilios de madera como la mesa de trabajo y el molde rectangular, el jarro es de barro y el chiquihuite de palma.

Los materiales que más contaminación presentaron fueron los que están elaborados de plástico, como el molde de aro de PVC, los botes para la cuajada de la leche y los coladores. Los promedios por grupo de microorganismos analizados fueron 2.80 ULFC para **M&L**, 3.33 ULFC para **BMA** y 1.80 ULFC para **CT**, superando lo establecido en la NOM 251 (DOF, 2010) para instalaciones. Fente-Sampayo *et al.* (2002) encontraron hasta 10 diferentes géneros de hongos en superficies de utensilios que están en contacto con los quesos en queserías de Arzua, en España.

La NOM 251 (DOF, 2010), establece los requisitos de utensilios y lugares donde se elaboran los alimentos, en el Cuadro 2 se observa que la mayoría de los utensilios tienen algún grado de contaminación, por lo cual es necesario realizar acciones para mejorar estas condiciones pues es ampliamente conocido que el consumo de alimentos elaborados con deficientes prácticas de higiene representan un riesgo para la salud del consumidor (Cristóbal y Murtua, 2003). Durante las visitas se observó que las mesas de trabajo y todos los utensilios implicados en la elaboración solo se lavan con agua y jabón y en ocasiones solo les pasan un trapo húmedo para retirarles el polvo. Esto es consistente con lo reportado por Romero-Castillo *et al.* (2009), para queso crema tropical en Chiapas, donde los locales muestreados elaboraban quesos con leche sin pasteurizar y carecían de buenas prácticas de higiene en instalaciones, equipos y personal.

Las desviaciones estándar observadas dan cuenta de las variaciones que existen entre queseros, los conteos observados en los utensilios pueden ser causa de

contaminación cruzada (Kusumaningrum *et al.*, 2003) por lo que es necesario capacitar a los productores de quesos para que se implementen mejores prácticas de higiene en el proceso de elaboración, realizar con ellos talleres para identificar los puntos críticos de control en la producción del queso, realizar desinfecciones rutinarias a los utensilios que se ocupan y hacer conciencia del uso de agua potable en la limpieza y desinfección de los utensilios y el uso de alcohol para desinfectar las manos antes de empezar la elaboración del queso.

El Cuadro 3 muestra los resultados obtenidos de los análisis realizados a la leche, suero y queso. El cuajo que se utiliza para la elaboración del queso, se obtiene de becerros de la región, es el abomaso lavado con abundante agua y secado al sol, para su conservación se le adiciona sal. Las cuentas observadas indican que el proceso de lavado y conservación no está bien realizado, ya que al secarlo al sol, atrae insectos, por ejemplo moscas las cuales recontaminan el cuajo. En Argentina, Vasek *et al.* (2004) en queso de Corrientes, reportan conteos de 4.85 ULFC para mohos y levaduras y 4.37 ULFC para coliformes en el agente coagulante, calidad inferior a lo encontrado en el Cuajo utilizado en Zacazonapan. El ANOVA mostro diferencias significativas ($P < 0.05$) para leche y queso con respecto a las cuentas para **M&L**, **BMA** y **CT**. El queso obtenido al final del proceso presenta conteos de 9.26 ULFC para **M&L**, 9.26 ULFC para **BMA**, 9.27 ULFC para **CT** y se detectó la presencia de **S** en queso, superando lo establecido en la NOM 243 (DOF, 2010) para quesos. Sin embargo, son similares a los reportados en otras zonas productoras de queso de México, por ejemplo, los conteos de **M&L** son similares a los reportados en quesos frescos de México por otros autores (Castro-Castillo *et al.*, 2013; Vázquez *et al.*, 2009); en Argentina,

Vasek *et al.* (2004) reportan cuentas de 3.66 ULFC para leche y 5.44 ULFC para queso de Corrientes.

Cuadro 3. Conteos realizados a leche, agua, cuajo y queso.

Muestra	M&L	BMA	CT	S
(ULFC/g ó ml)	(Promedio ± D.E.)			
Leche	6.83±0.27 ^{ab}	6.76±0.67 ^{ab}	4.50±3.96 ^a	ND
Cuajo	2.56±4.44 ^a	4.99±2.92 ^a	0.29±0.51 ^a	ND
Suero	4.38±4.03 ^a	5.06±3.50 ^a	3.96±3.71 ^a	ND
Queso	9.26±0.11 ^b	9.26±0.35 ^b	9.27±0.11 ^b	PRESENTE

ULFC/g ó ml: Unidades logarítmicas formadoras de colonias por gramo o mililitro. D.E.: Desviación estándar. ND: No determinado.

M&L: Mohos y levaduras, BMA: Bacterias mesófilas aerobias, CT: Coliformes totales, S: *Salmonella* spp.

Literales diferentes entre columnas, presentan diferencias significativas (P<0.05).

Fuente: elaboración propia, con datos de laboratorio.

Las cuentas para **BMA** en el queso crema de Chiapas (Romero-Castillo *et al.*, 2009) promediaron 7 ULFC y 6.8 ULFC en el queso fresco de Tuzupapan (Reséndiz *et al.*, 2012). En queso de Corrientes se reportan 6.47 ULFC para leche y 9.76 ULFC para queso (Vasek *et al.*, 2004).

La NOM 243 (DOF, 2010) considera también que dentro de las **BMA** pueden encontrarse bacterias que son de gran ayuda en la producción de los aromas, textura y sabores del queso destacando las bacterias ácido lácticas.

Los conteos de los **CT** superan a las 2.98 ULFC de queso fresco de Tuzupapan (Reséndiz *et al.*, 2012), en queso Oaxaca del altiplano mexicano se obtuvieron conteos de 8.3 ULFC para leche y 9.0 ULFC para queso (Castro-Castillo *et al.*,

2013), Hernández y Duran (2013) no detectaron la presencia de coliformes en el queso poro de Tabasco, México.

Los análisis determinaron la presencia de **S** en queso fresco (Cuadro 3). *Salmonella* spp. no ha sido detectada en quesos mexicanos frescos (Castro-Georgana *et al.*, 2007), excepto en el queso crema tropical del estado de Chiapas, México, su presencia se asocia a la elaboración de productos con leche no pasteurizada (Romero-Castillo *et al.*, 2009; Diaz-Cinco *et al.*, 1998; Torrez-Llañez *et al.*, 2006).

La contaminación de la leche pudo ser ocasionada desde el momento de la ordeña o a la mala desinfección de los botes utilizados para la cuajada. La leche puede ser vehículo de bacterias patógenas para el hombre cuando procede de un animal enfermo o cuando después del ordeño se contamina por diversas causas; entre los microorganismos patógenos que pueden estar presentes en la leche se encuentran: *Brucella*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Streptococcus aureus* (Castro-Georgana *et al.*, 2007).

Cabrera *et al.* (2000) encontraron que los quesos artesanales de Corrientes, Argentina, eran elaborados a partir de leche cruda entera, utilizando materiales, utensilios y procedimientos muy rudimentarios, bajo condiciones higiénico-sanitarias deficientes. Diversos estudios han demostrado la presencia de microorganismos contaminantes en queserías, se ha reportado que los quesos pueden contaminarse por bacterias que sobreviven en el medio, en los equipos, instalaciones, salas de maduración y almacenamiento (Greenwood *et al.*, 1991; Linnan *et al.*, 1988). Se ha indicado incluso que los refrigeradores, han sido fuentes de contaminación de *L. monocytogenes* en quesos elaborados con leche

pasteurizada (Brito *et al.*, 2008). A pesar de esto, Hernández y Duran (2013) indican que, aunque en el proceso de elaboración no se cumplen con las condiciones higiénicas sanitarias en utensilios y suministros, es posible que el producto final logre cumplir con los requerimientos sanitarios, si se les da un tiempo de maduración en condiciones controladas. Aunque existe riesgo de adquirir enfermedades transmitidas por alimentos, la biodiversidad de la microflora indígena que envuelve a los quesos elaborados con leche cruda puede ser considerada un aspecto fundamental para mantener las características típicas de los quesos tradicionales (Demarigny *et al.*, 1997; Marino *et al.*, 2003).

Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos, los conteos de mohos y levaduras, mesófilos aerobios y coliformes totales observados, indican la poca higiene que se tiene en los locales y en los utensilios que se usan en la elaboración del queso.

El queso Zacazonapan es un producto de gran tradición en la zona sur del estado de México, por lo que se hace necesario realizar acciones para que se elaboren quesos más seguros que no representen riesgo de transmitir enfermedades.

Literatura citada

Brito, J. R. F., Santos, E. M. P., Arcuri, E. F., Lange, C. C., Brito, M. A. V. P., Souza, G. N. 2008. Retail survey of Brazilian milk and Minas frescal cheese and a contaminated dairy plant to establish prevalence, relatedness, and sources of *Listeria monocytogenes* isolates. *Applied and Environmental Microbiology*. 74:4954–4961.

- Caballero TA, Carrera VA, Legomin FE. 1998. Evaluación de la Vigilancia Microbiológica de alimentos que se venden en las calles. Rev Cubana Aliment Nutr. 12:7-10.
- Cabrera RB, Basilica JC, Fusco AJ. 2000. Hongos en quesos artesanales de corrientes (Argentina). En cátedra de Microbiología presentada Fac. Cs. Exactas, Naturales y Agrimensura, U.N.N.E. – Laboratorio de Bromatología Campus Corrientes – Argentina: Dto. Biotecnología, Fac. Ing. Química, U.N. Litoral, Santa Fe. Disponible en <http://www.iaea.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/exactas/e-021.pdf>
Consultado: 28 de enero de 2015.
- Castro-Castillo G, Martínez-Castañeda FM, Martínez-Campos AR, Espinoza-Ortega A. 2013. Caracterización de la microbiota nativa del queso Oaxaca tradicional en tres fases de elaboración. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 33:105-109.
- Castro-Georgana V, Díaz-Rodríguez AM, Torres-Torres B. Análisis de la calidad sanitaria de las queserías y los quesos en el Estado de Tabasco en el período del 2002-2005. 2007. Salud en Tabasco. 13:560-567.
- Cristóbal DRL, Maurtua TDJ. 2003. Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* spp. Rev Panam Salud Pública. 14:158-164.
- Demarigny, Y., Beuvier, E., Buchin, S., Pochet, S. Grappin, R. 1997. Influence of raw milk microflora on the characteristics of Swiss-type cheeses. II. Biochemical and sensory characteristics. Lait. 77:151–167

- Díaz-Cinco M, Acedo E, León DA. 1998. Survival of *Brucella abortus* in Mexican white soft cheese processing. Recent Research Developments in Nutrition Research. 2:47–57.
- DOF (Diario oficial de la federación). 2010. Catalogo de Normas Oficiales Mexicanas. [On-line; consultado desde 18 Oct 2010]. Disponible en: <http://www.dof.gob.mx/normasOficiales.php>
- Farkye NY. 2002. Microbiology of soft cheese, in: (Dairy Microbiology Handbook 3th, Richard K. Robinson). Inc. New York, USA. 479–513.
- Fente-Sampayo CA, Vázquez-Belda B., Rodríguez-Otero JL, Franco-Abuin C, Quinto-Fernandez E, Cepeda-Saez A. 2002. Microflora predominante en las queserías de Arzúa (España). Ciencia y Tecnología Alimentaria. 3:271-276.
- García E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen, adaptado para las condiciones de la República Mexicana. 3ª ed., Offset., Lario Ed. S.A.
- González T, Rojas RHA. 2005. Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. Salud Pública Méx. 47:388-390.
- Greenwood MH, Roberts D, Burden P. 1991. The occurrence of *Listeria* species in milk and dairy products: A national survey in England and Wales. International Journal of Food Microbiology. 12:197–206.
- Hernández DN, Durán MT. 2013. Calidad sanitaria de los puntos iniciales de proceso de manufactura de queso. Horizonte sanitario. 12:58-62.
- Kusumaningrum HD, Riboldi G, Hazeleger WC, Beumer RR. 2003. Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. International Journal of Food Microbiology. 85:227–236.

- Linnan, M. J., Mascola, L., Lou, X. D., Goulet, V., May, S., Salminen, C. 1988. Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. *The New England Journal of Medicine*. 319:823–828.
- Lück H. 1990. Quality control in the Dairy Industry. In *Dairy Microbiology Vol 2*. (2nd Ed)(Ed Elsevier Science Publishers) R.K. Robinson, London. UK.
- Marino M, Maifreni M, Rondinini G. 2003. Microbiological characterization of artisanal Montaisa cheese: analysis of its indigenous lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*. 229:133–140.
- Mercado CE. 2007. Los ámbitos normativos, la gestión de la calidad y la inocuidad alimentaria: una visión integral. *Agroalimentaria*. 12:119-131.
- Reséndiz MR, Hernández ZJS, Ramírez HR, Pérez AR. 2012. El queso fresco artesanal de la canasta básica y su calidad sanitaria en Tuzuapan, México. *Acta Iberoamericana de Conservación Animal*. 2:253-255.
- Romero-Castillo PA, Leyva-Ruelas G, Cruz-Castilo JG, Santos-Moreno A. 2009. Evaluación de la calidad sanitaria de quesos crema tropical mexicano de la región de Tonalá, Chiapas. *Rev. Mex. Ing. Quím*. 8:111-119.
- Statgraphics® Centurion XVII. 2014. User Manual. Statpoint Technologies, Inc. USA.
- Taniwaki MH, Van Dender AGF. 1992. Occurrence of Toxigenic molds in Brazilian cheese. *Journal of Food Protection*. 3:187-191.
- Torrez-Llañez MJ, Vallejo-Córdoba B, Díaz-Cinco ME, Mazorra-Manzano MA, González-Córdoba AF. 2006. Characterization of the natural microflora of artisanal Mexican Fresco cheese. *Food Control*. 17:683-690.

- Vasek OM, Cabrera R, Coronel GJ, De Giori GS, Fusco AJV. 2004. Análisis de riesgos en la elaboración de queso artesanal de Corrientes (Argentina). FACENA. 20:13-22.
- Vázquez FC, Espinoza VE, Castelán OOA, Espinoza OA. 2009. Microbiological quality of artisan made Mexican Botanero cheese in the central highlands. J Food Safety. 30:40–50.
- Villegas de Gante A, Cervantes EF. 2011. La genuinidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales mexicanos. Estudios Sociales. 19:145-164.

8.2 Artículo enviado a Agricultura Sociedad y Desarrollo

8.2.1 Carta de recepción

De: BENITO RAMÍREZ VALVERDE [bramirez@colpos.mx]

Enviado el: martes, 27 de octubre de 2015 12:59 p.m.

Para: Julieta Gertrudis Estrada Flores

Asunto: [ASYD] Acuse de recibo de envío

Julieta Gertrudis Estrada Flores:

Gracias por enviar el manuscrito "LA PRODUCCIÓN DE QUESO EN EL SUR DEL ESTADO DE MÉXICO; LOCALIZACIÓN, PROCESO DE ELABORACIÓN Y CALIDAD FISICOQUÍMICA DEL QUESO AÑEJO DE ZACAZONAPAN" a Agricultura Sociedad y Desarrollo. Con nuestro sistema de gestión de revistas en línea, podrá iniciar sesión en el sitio web de la revista y hacer un seguimiento de su progreso a través del proceso editorial.

URL del manuscrito:

<http://www.revistas-conacyt.unam.mx/asyd/index.php/asyd/author/submission/190>

Nombre de usuario/a: julieta

En caso de dudas, contacte conmigo. Gracias por elegir esta revista para publicar su trabajo.

BENITO RAMÍREZ VALVERDE

Agricultura Sociedad y Desarrollo

Agricultura Sociedad y Desarrollo

<http://www.revistas-conacyt.unam.mx/asyd/index.php/asyd/>

Julieta Gertrudis Estrada Flores <jgestradaf@uaemex.mx>

Para

jaircio2000@yahoo.com.mx

oct 29 a las 2:29 P.M.

De: BENITO RAMÍREZ VALVERDE [bramirez@colpos.mx]

Enviado el: miércoles, 28 de octubre de 2015 09:37 a.m.

Para: Jair Jesús Sánchez Valdés; Vianey Colín Navarro; Felipe López González;
Francisca Aviles Nova; Octavio Alonso Castelán Ortega; Julieta Gertrudis Estrada
Flores

Asunto: [ASYD] LA PRODUCCIÓN DE QUESO EN EL SUR DEL ESTADO DE
MÉXICO; LOCALIZACIÓN, PROCESO DE ELABORACIÓN Y CALIDAD

Le comunico haber recibido su contribución para iniciar el proceso en la
revista Agricultura, Sociedad y Desarrollo (ASyD). Al artículo se le
asignó la clave ASD-15-076.

El Director de la Revista ASyD

Dr. Benito Ramírez Valverde

Agricultura Sociedad y Desarrollo

<http://www.revistas-conacyt.unam.mx/asyd/index.php/asyd/>

8.2.2 La producción de queso en el sur del Estado de México; localización, proceso de elaboración y calidad fisicoquímica del Queso Añejo de Zacazonapan.

La producción de queso en el sur del Estado de México; localización, proceso de elaboración y calidad fisicoquímica del Queso Añejo de Zacazonapan.

Cheese production in the south of Mexico state; localization, making process and physicochemical quality of Zacazonapan Mature Cheese

Jair Jesús **Sánchez-Valdés**^a, Vianey **Colín-Navarro**^a, Francisca **Avilés-Nova**^b, Octavio Alonso **Castelán-Ortega**^c, Julieta Gertrudis **Estrada-Flores**^{a*}

^a Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales; ^b Centro Universitario Temascaltepec; ^c Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto Literario No. 100, Colonia Centro. CP. 50000. Toluca, México.

* Corresponding Author: jgestradaf@uaemex.mx

Resumen

La producción de queso en la región sur del estado de México es una actividad complementaria a la producción de leche con más de 600 años de tradición. El queso de Zacazonapan (fresco y añejo) es un producto que mantiene autenticidad y originalidad que lo liga a las circunstancias sociales, culturales y de disponibilidad de recursos naturales, cumple un rol importante como eslabón entre el sector agrícola y el mercado. El objetivo de este trabajo fue conocer las características propias del queso añejo de Zacazonapan determinando zona de producción, forma de elaboración y calidad fisicoquímica. Se localizaron a 31 productores que saben elaborar este queso de los cuales solo 7 lo siguen produciendo. En cuatro queserías se observó el proceso de elaboración y se encontraron acciones que no se llevan a cabo en la elaboración de quesos en otras zonas de México. El queso añejo de Zacazonapan tiene una humedad final de 359 g/kg, grasa de 201 g/kg, proteína de 268 g/kg, pH de 4.5 y NaCl de 38 g/kg. Se concluye que el producto es de buena calidad, el proceso de elaboración es artesanal lo que lo clasifica como un queso original, haciéndolo candidato para la obtención de algún sello de calidad.

Palabras clave: productos tradicionales, queso añejo, localización, calidad fisicoquímica

Abstract

Cheese production in the southern region of the state of Mexico is a complementary activity to the production of milk with more than 600 years of

tradition. Zacazonapan cheese (fresh and mature) is a product that keeps authenticity and originality that the league to the circumstances social, cultural and natural resource availability, plays an important role as a link between agricultural sector and the market. The aim of this work was to determine the characteristics of the Zacazonapan mature cheese, determining production area, form of processing and physicochemical quality. It is located to 31 producers who knows how to make this cheese of which only 7 are still continuing. In four dairies the process of elaboration is observed and found not actions are carried out in cheese making in other areas of Mexico. Zacazonapan mature cheese has a final moisture content of 359 g/kg, fat of 201 g/kg, protein of 268 g/kg, pH of 4.5 and 38 g NaCl/kg. It is concluded that the product is of good quality, the process of elaboration is artisanal what classifies as a cheese original, making it candidate to obtain a seal of quality.

Keywords: traditional products, ripening cheese, localization, physicochemical quality

Introducción

La agroindustria rural latinoamericana elabora una amplia variedad de productos alimenticios, que mantienen autenticidad y originalidad ligadas a las circunstancias sociales, culturales y de disponibilidad local de recursos naturales (Oyarzún and Tartanac, 2002). La inédita preferencia por lo que se percibe como “auténtico” y “genuino” es, en gran medida, una reacción ante los rápidos cambios que conlleva la globalización. En el marco actual de la globalización de la economía, estos productos tienen un rol importante como eslabón integrador entre el sector

agrícola y el mercado (Oyarzún and Tartanac, 2002). Los consumidores de estos productos están dispuestos a pagar un sobreprecio por consumir productos fieles a sus raíces que conservan la calidad de siempre y que no han sido modificados por la modernización (Van de Kop *et al.*, 2006; FAO, 2008).

La producción tradicional de queso, ha tomado fuerza en distintos lugares del mundo incrementando su importancia como una actividad económica principal. En el país, existen más de 40 variedades de quesos genuinos, algunos gozan de una amplia difusión, con altos volúmenes producidos, por ejemplo el queso chihuahua, el tipo manchego mexicano, el panela, asadero y Cotija. Otros solamente se conocen y consumen en ciertas regiones, por ejemplo, el queso crema de Chiapas, el queso guaje, el de hoja y el queso de poro, de Tabasco (Villegas y Cervantes, 2011)

En general, tanto en su elaboración como su comercialización, los quesos artesanales, no están sujetos a controles bromatológicos, microbiológicos ni responden a alguna tipificación (Cabrera *et al.*, 2000). Los quesos mexicanos genuinos forman parte de la tradición y cultura del país, pero se están extinguiendo ante la presión competitiva que ejercen los productos de imitación y la falta de una revalorización por la sociedad, lo que contribuye a una pérdida gradual de nuestras tradiciones alimentarias y a la merma de nuestra propia identidad (Villegas y Cervantes, 2011).

En los últimos años, numerosas experiencias alrededor del mundo muestran cómo en territorios en los cuales existen productos con calidad asociada al origen, los

actores locales cooperan para valorizar y calificar las especificidades territoriales mediante signos distintivos de calidad con mención al territorio de origen (Bramley *et al.*, 2010). Esta estrategia ha sido usada ampliamente en países mediterráneos como parte de las estrategias de desarrollo rural (Arfini, 2006). Organismos multilaterales como la FAO promueven estas estrategias de diferenciación en América Latina, pues reconocen los beneficios (económicos, sociales, culturales, ambientales) que esta estrategia ha generado en otras latitudes (Fonte *et al.*, 2006; Riveros *et al.*, 2008).

Los productos vinculados al origen muestran los atributos de calidad vinculados a los lugares geográficos donde han sido producidos y, con el tiempo, adquieren una reputación gracias a la indicación geográfica (IG) que les identifica. Con ello, se hace evidente una combinación única de recursos naturales locales (clima, suelos, variedades de plantas, razas, equipos tradicionales, etc.) y culturales (tradiciones, saber hacer y conocimientos especializados, algunos transmitidos de generación en generación) de un territorio determinado, vinculando al producto con la población y el lugar (Vandecandelaere *et al.*, 2010)

En México existen dos figuras legales mediante las cuales se puede proteger a un producto, la denominación de origen (DO) y la marca colectiva (MC), regulados por el Instituto Mexicano de la Protección Industrial (IMPI). En la creación de una MC es recomendable examinar los procesos de transformación y determinar las características de las materias primas y del producto mismo, todos elementos esenciales asociados a la tipicidad del producto, y que son requeridos para

elaborar las reglas de uso, documento capital para solicitar el otorgamiento de la MC ante el IMPI (Hernández *et al.*, 2011).

En el estado de México, en la región sur, se produce un queso madurado cuya tradición comprende más de 600 años, se produce en el municipio de Zacazonapan (queso añejo de Zacazonapan). Sin embargo, al igual que la mayoría de los quesos genuinos está por desaparecer, por lo que el objetivo de este trabajo fue describir y delimitar la zona de producción de la leche y queso, describir su proceso de elaboración y determinar los parámetros fisicoquímicos que den cuenta de su calidad, buscando con ello la valorización del queso añejo de Zacazonapan y quizás la obtención de un sello de indicación geográfica en el caso de México una marca colectiva.

MATERIALES Y METODOS

Localización y descripción de la zona de producción

Para localizar y describir la zona de producción del queso añejo de Zacazonapan en la región sur del Estado de México, se tuvo un primer acercamiento con autoridades del municipio de Zacazonapan y con productores de queso (informantes clave) donde se observó el proceso de elaboración del queso y se obtuvieron detalles para poder diferenciarlo de otros quesos producidos en la región. Posteriormente, de acuerdo a la metodología de bola de nieve (Goodman, 1961), se visitaron los lugares donde los informantes sabían que se produce queso añejo de Zacazonapan (conocido también como “Queso Refregado” en referencia al proceso de molienda y lo tardado que es su elaboración) se

observaba el proceso de elaboración para verificar que era el mismo ya que en la zona se produce otro queso maduro que se conoce como “queso de prensa”. Una vez que se confirmaba que era el mismo procedimiento del queso añejo o “refregado” de Zacazonapan se referenciaba geo-espacialmente con un sistema de posicionamiento global (GPS) marca Garmin modelo Etrex vista) los lugares donde se produce la leche y donde se elabora el queso. Las referencias geo-espaciales de cada quesería y potrero se sobrepusieron en un mapa de la carta de uso actual de suelo y vegetación del Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI, 2005). De acuerdo a los lugares visitados y a las bases de datos del INEGI se describió la zona de producción del queso añejo de Zacazonapan tomando en cuenta factores geográficos como topografía, clima, altitud, precipitaciones medias anuales, agronómicos como vegetación y tipo de suelo y los actores sociales que participan en el proceso.

Descripción del proceso de elaboración del queso y obtención de muestras

La descripción del proceso de elaboración del queso y la obtención de muestras de queso añejo se llevó a cabo en el municipio de Zacazonapan, estado de México, localizado entre los paralelos 19° 00' 17" y 19° 16' 17" de latitud norte y entre los meridianos 100° 12' 55" y 100° 18' 13" de longitud oeste, a una altura de 1470 m.s.n.m. La temperatura media anual es de 23°C y la precipitación es de 1041.8 mm al año.

El proceso de elaboración artesanal del queso se observó directamente en cuatro casos de estudio en el municipio de Zacazonapan, se realizaron dos visitas a cada

quesería durante el periodo de elaboración (julio a noviembre de 2010). La secuencia y tiempos de las operaciones de elaboración del queso fueron observadas y registradas.

En noviembre de 2010 se tomaron dos muestras de quesos con 120 días de maduración, siguiendo los procedimientos de la norma oficial mexicana (NOM) 109 (SSA, 1994) las muestras obtenidas fueron colocadas en contenedores estériles cerrados y transportadas a 4°C para su posterior análisis en laboratorio.

Determinación de los parámetros fisicoquímicos en queso

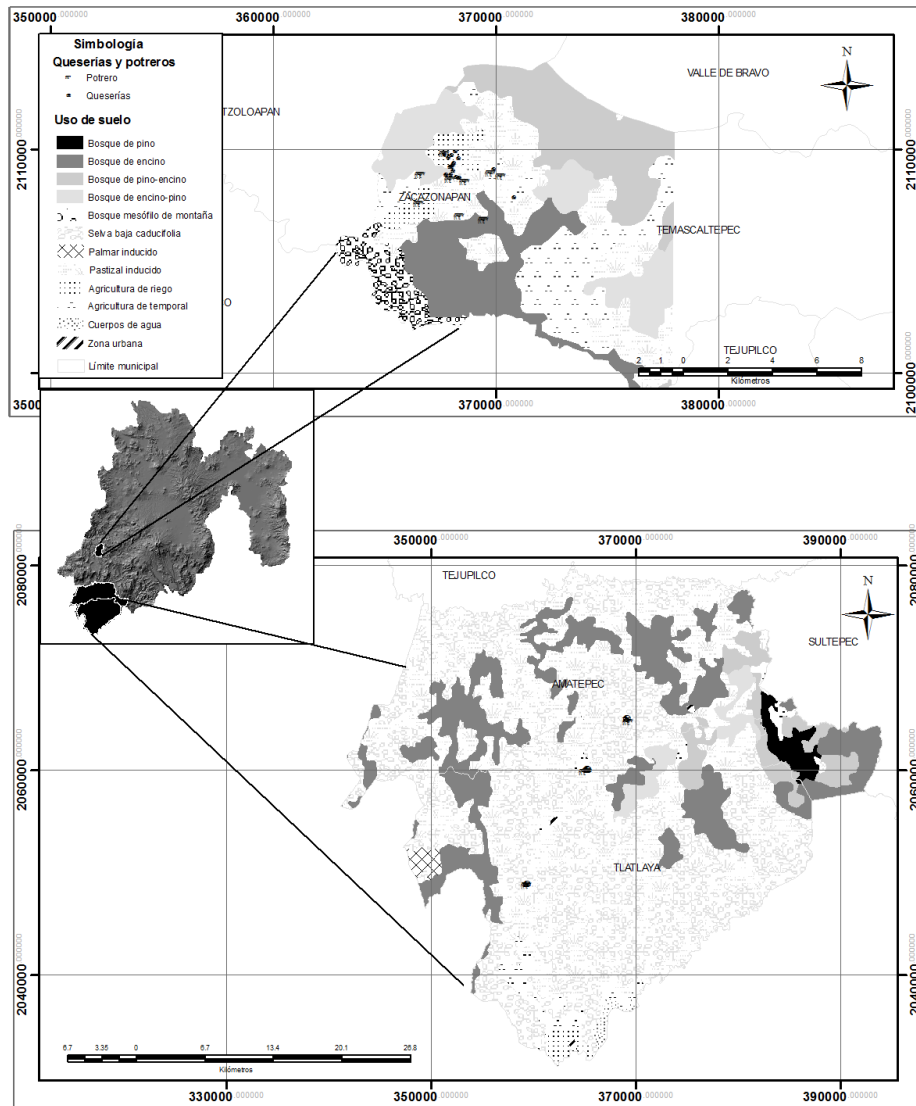
Siguiendo los métodos de la AOAC (2005), se determinó el contenido de humedad (método 926,08), el contenido de grasa con el método Soxhlet por extracción con éter (método 960,39), la proteína por el método Kjeldhal (método 920,123) donde el contenido de nitrógeno se multiplicó por 6,38 para convertirlo a proteína cruda. Las cenizas por incineración de la muestra en una mufla a 550°C por 4 horas (método 935,42), se usó un potenciómetro Orion 520 A para medir pH, el contenido de sal (NaCl) se determinó por el método de Volhard (método 935,43). Todos los análisis se realizaron por duplicado. Se hizo uso de estadística descriptiva para presentar los resultados con su respectiva desviación estándar.

Resultados y discusión

Zona de producción del QMZ

El queso añejo se produce en varios lugares del sur del estado de México, destacan los municipios de Amatepec, Temascaltepec, Tlatlaya y algunas

localidades del estado de Guerrero colindantes con el estado de México. Sin embargo, la mayor producción se centra en el municipio de Zacazonapan (Figura 1). La ganadería es la principal actividad económica, a ésta actividad se destina el 60% de la superficie (Hernández *et al.*, 2011).



Fuente: Elaboración propia.

Figura 1. Localización de productores de leche (potreros) y productores de queso añejo (Queserías), ubicados en los municipios de Zacazonapan y Temascaltepec (arriba) y los municipios de Amatepec y Tlatlaya (abajo).

Las zonas de pastoreo para el ganado lechero están ubicadas en la periferia del municipio, alrededor de la cabecera municipal. De acuerdo con la Asociación Ganadera Ejidal de Zacazonapan, existen 64 productores de leche en el municipio, el tamaño promedio de las fincas es de 73,8 hectáreas con un rango que va desde cero hasta 450 hectáreas. En el caso de productores que no tienen tierra propia, recurren a la renta de superficies ya sea para cultivar maíz o praderas para alimentar al ganado.

En el municipio de Zacazonapan se localizaron 23 productores de queso, de los cuales solo siete elaboran queso añejo para venta al público en la época de cuaresma, el resto solo elabora eventualmente queso añejo de Zacazonapan para consumo propio o para participar en un evento anual denominado “La Feria del Queso” donde se premia al mejor producto.

Las queseras son mujeres con edades entre los 45 y 70 años, sin escolaridad o con niveles de educación primaria, en algunos casos se encuentran mujeres de 18 a 20 años aprendiendo el proceso de elaboración del queso; este conocimiento se transmite de generación en generación o es aprendido al trabajar en las queserías. Las queserías existentes se han dedicado a esta actividad durante al menos diez años y la venta del queso es su única o principal fuente de ingresos, aunque otras actividades económicas que complementan sus ingresos son la ganadería o el comercio. La mano de obra es familiar en el 87,5% de las

queserías. El 62,5% de los queseros compra la leche, mientras que el 37,5% de los productores están integrados verticalmente (Hernández *et al.*, 2011).

La comercialización del queso de Zacazonapan (fresco y añejo) se realiza en mercados establecidos y ambulantes de la región, destacan los mercados en los municipios de Luvianos, Sultepec, Tejupilco, Temascaltepec y sobre todo la zona turística de Valle de Bravo; sin embargo, el queso añejo se oferta en su mayoría en la Feria del Queso, que coincide con las festividades decembrinas, donde acuden personas de la región, personas originarias de la región pero que viven en zonas urbanas e incluso migrantes que cuando regresan a Estados Unidos llevan piezas de queso, las cuales son pasadas de contrabando.

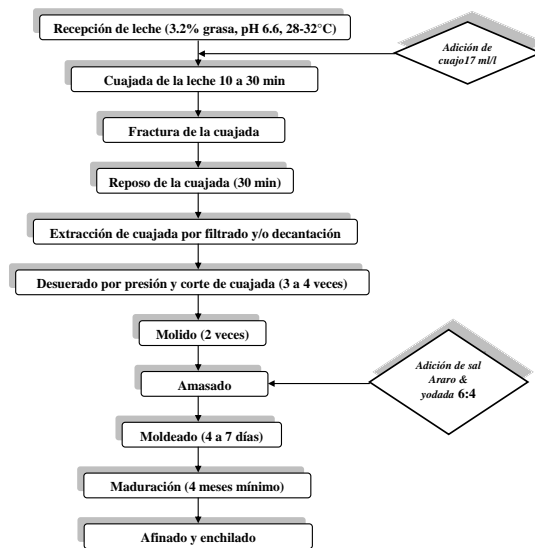
A pesar de la demanda que tiene este producto en la región, la producción de queso en los últimos años no ha sido suficiente para cubrir esa demanda por lo que, algunos comerciantes, han recurrido en los últimos años, a un queso similar que se lleva del estado de Veracruz (localizado al suroeste de México) y que se promociona como queso añejo de Zacazonapan por sus similitudes en sabor y en aroma. De ahí la importancia de delimitar la zona de producción y buscar su protección ya que esto le daría valor agregado al producto, su precio actual ronda los 170 pesos por kilo mientras que el queso Cotija (que ya cuenta con una marca colectiva) cuesta 220 pesos kilo aproximadamente, esto despertaría el interés de los productores para continuar con su producción.

Descripción del proceso de elaboración del queso

La producción de queso se lleva a cabo de manera artesanal, es decir, a mano sin utilizar tecnología alguna, utilizando para ello utensilios de madera, plástico, peltre entre otros. El lugar destinado para tal fin puede ser la cocina de la vivienda, un espacio en el patio, o como en el caso de los más sofisticados, un local anexo a la vivienda. La producción del queso que se destinara para madurar inicia cuando se establece la época de lluvias y la alimentación del ganado está basada únicamente en el pastoreo.

El proceso de elaboración presenta algunas variaciones entre productores, variaciones que se deben a la falta de estandarización de procesos (Palacio *et al.*, 2002; García 2005), cada uno recurre al saber – hacer (Ramírez, 2010), pues es así como le enseñaron a hacerlo. En la elaboración del queso se identifican las etapas observadas en la Figura 2, cada operación y las actividades realizadas se describen a continuación.

La elaboración del queso inicia de 4 a 6 horas después del ordeño, que es el tiempo que tarda en trasladarse la leche desde el lugar de ordeña a la quesería. En la quesería, la leche se filtra y deposita en botes o tinas de plástico con capacidad aproximada de 100 litros. Si el productor de queso acopia leche de varios productores al momento de recibir y filtrar la leche en la quesería, verifica que la leche tenga el color blanco característico, que el aroma sea agradable, que no tenga grumos ni objetos extraños. Sin embargo, no se realiza ninguna otra prueba que dé cuenta de la calidad de la materia prima. En algunos casos algunos productores extraen la capa superior de la leche (crema) antes de adicionar el cuajo.



Fuente: Elaboración propia, con datos recopilados en campo

Figura 2. Flujograma del proceso de elaboración del queso añejo de Zacazonapan.

El cuajo o “cuerito” (retículo) es obtenido de becerros de la región, el cual es lavado y secado al sol y para su conservación se le adiciona sal de mesa ó sal de “Araró”, esta sal se produce de manera artesanal en el estado vecino de Michoacán y lleva el nombre del lugar donde se produce (19° 54’38” de latitud norte y 100° 49’32” de longitud oeste). Antes de iniciar la elaboración del queso, se corta un pedazo del retículo y se pone en leche tibia por aproximadamente 20 minutos, el trozo de retículo a utilizar y la leche dependen de la cantidad a cuajar.

El cuajado de la leche se realiza añadiendo de 10-20 mL de cuajo por litro de leche. Sin embargo, la adición de cuajo depende del tiempo que tarde la leche en cuajar. El cuajado se realiza en un tiempo de 10 a 30 min a una temperatura que

va de los 28 a 32°C. Al pasar este tiempo, se realiza un primer corte en cruz a la cuajada y unos minutos después se fractura por completo la cuajada, este proceso se realiza a mano o con la ayuda de algún utensilio.

Para separar la fase sólida de la líquida, se extrae el suero de la tina o bote de cuajado con ayuda de algún utensilio o por decantación. Posteriormente, la fase sólida (cuajada), se coloca en la mesa de trabajo, envuelta en tela “manta de cielo” limpia, se le coloca un objeto pesado encima (generalmente es una piedra) para extraer todo el suero que sea posible. Pasados 15 a 20 minutos, la cuajada se corta en cubos pequeños, se envuelve de nuevo en la tela y se coloca de nuevo el objeto pesado encima. El proceso se repite de 3 a 4 veces.

Ya extraída la mayor cantidad de suero, el queso se muele a mano 2 a 3 veces con un metate, que es el nombre que recibe en Latinoamérica y, en especial, en México un mortero de piedra volcánica tallada de forma rectangular, compuesto de dos elementos, la plancha rectangular para moler y otra pieza cilíndrica, también de piedra volcánica, con extremos de menor diámetro para poder asir con seguridad, conocido como metlapilli (mano de metate). El metlapilli se usa contra el metate para moler granos de maíz u otro elemento presionándolos entre ambos para romper el material (Macazaga, 1979), un quesero realiza este proceso con la ayuda de molino eléctrico, el cual tiene el mismo principio; romper el material entre dos piedras.

Durante el amasado, se adiciona la sal al queso para darle sabor, este proceso se realiza a mano sobre la mesa de trabajo y consiste homogenizar la sal en el

queso. La sal utilizada es una mezcla de sal de Araró y sal común o de mesa, la proporción es 60/40 y se adiciona de acuerdo a la experiencia del quesero; es decir, sin pesar la sal adicionada.

Una vez amasado y corregido el sabor con la sal, el queso se coloca en moldes de madera rectangulares o en cintas de madera que hacen que tome forma circular, estos moldes se conocen como “cincho”, el tamaño del molde o la abertura del cincho depende del peso final del queso a elaborar. El queso se prensa en los moldes, primero a mano y posteriormente se coloca un objeto pesado en la parte superior para ayudar en la compactación y desuerado del queso al menos por 4 horas. El queso se deja en los moldes cuatro días más y se coloca en estantes (conocidos en la región como percheras) de carrizo en donde se continúa con el desuerado y maduración.

La maduración depende de los factores climáticos y se lleva a cabo en percheras que cuelgan en el mismo lugar donde se elabora el queso, este proceso tarda al menos 4 meses; aunque los queseros refirieron la existencia de piezas maduras de hasta un año. Al final de la maduración el queso es afinado, es decir, se prepara para su venta, se limpia retirándole las capas de moho producido en la maduración. Una vez afinado, se procede a untar pasta de chile guajillo (*Capsicum annuum*) en las caras del queso con el fin de mejorar la presentación para que agrade al consumidor. La pasta de chile guajillo se prepara moliendo chile guajillo desvenado, hervido por unos minutos.

Villegas (2012) considera que los quesos mexicanos genuinos deben prepararse a partir de leche fluida de vaca o cabra y que en su elaboración se deben incorporar únicamente los insumos que tradicionalmente se han usado, siempre y cuando sean permitidos por la normatividad vigente; destaca además que los quesos genuinos deberán tener una tradición de al menos cuatro décadas y producirse en territorio mexicano. De acuerdo a lo observado en el proceso de elaboración del queso añejo de Zacazonapan, podemos considerarlo como un queso genuino al utilizar leche cruda, cuajo natural, sal artesanal y el doble o triple molido; proceso que solo se hace en este queso.

Calidad fisicoquímica del queso

La calidad fisicoquímica del queso añejo de Zacazonapan se muestra en el Cuadro 1, las desviaciones estándar muestran que hay gran variación entre productores, situación común en procesos no estandarizados.

Cuadro 1. Parámetros fisicoquímicos del queso añejado por 120 días (B.H.).

Caso de estudio	Proteína (g/kg)	Grasa (g/kg)	pH	Humedad (g/kg)	Cenizas (g/kg)	NaCl (g/kg)
1	268	180	4.5	267	77	52
2	268	221	4.5	450	34	24
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
Promedio	268	201	4.5	359	56	38
D.E.	57	29	0	129	30	20

B.H.: Base húmeda, D.E.: Desviación estándar

Fuente: Elaboración propia

Los resultados obtenidos muestran que el queso añejo de Zacazonapan, por sus características fisicoquímicas, pudiera competir con otros quesos más comerciales como el queso Tepeque de Michoacan quien presenta valores de 22.3% para proteína, 22.5% para grasa, 3.7% de sal, pH de 6.1, 5.5% de cenizas y 51.2% de humedad (Solis-Méndez *et al.*, 2013).

Respecto a quesos producidos en otras partes del mundo, el queso añejo de Zacazonapan presenta calidad similar al queso Kulek de Turquía con 120 días de maduración, contiene en promedio 40% de grasa, 10% de sal, 6% de cenizas, 25% de proteína y pH de 5 (Dervisoglu and Oğuz, 2007), el queso Reggianito de Argentina madurado por 6 meses presenta valores de 23.8% de grasa, 28.9% de proteína, pH de 5.17 y 38% de humedad (Candioti *et al.*, 2002).

Existen muchas formas de clasificar a los quesos; Sin embargo, de acuerdo a la clasificación de Alais (1970), el queso añejo de Zacazonapan se clasificaría como un queso semigraso de pasta semidura.

Conclusiones

Los resultados obtenidos sugieren que el queso añejo de Zacazonapan es un producto de excelente calidad, desde el punto de vista de sus principales nutrientes. Tiene una tradición que supera los 600 años y se conoce y produce en muchos lugares del sur del estado de México e incluso en las zonas que colindan con el estado de Guerrero. Sin embargo, su producción actualmente se limita al municipio de Zacazonapan, su proceso de elaboración es artesanal y dentro del

mismo se realizan acciones que difieren a la forma de elaborar quesos en otras regiones de México. Esto hace que se pueda clasificar como un queso mexicano genuino y sea considerado para acceder a una marca colectiva o denominación de origen.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por otorgar la beca para los estudios de postgrado y a la Universidad Autónoma del Estado de México por el apoyo financiero a través del proyecto UAEM 3101/2011.

Referencias

Alais, Charles. (1970). *Ciencia de la leche*. Editorial Continental S. A. Barcelona España.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists International) (2005). *Official Methods of Analysis*, 18th ed. Washington, D. C.

Arfini, Filippo. (2006) Productos típicos y desarrollo rural: entre calidad y políticas de gobernanza. *Revista de Estudios Agrosociales y Pesqueros*, Madrid, nº 210, pp. 13-38.

Bramley, Cerkia, Estelle Biénabe, and Johann Kirsten. 2009. The Economics of Geographical Indications: Towards a Conceptual Framework for Geographical Indication Research in Developing Countries, in: *The Economics of Intellectual Property. Suggestions for Further Research in*

Developing Countries and Countries with Economies in Transition, WIPO: Geneva. pp. 109-141.

Cabrera, Rosa Blanca, y Juan Carlos Basílico, Ángel José Fusco. 2000. Hongos en Quesos Artesanales de Corrientes Argentina. Disponible en; <http://www1.unne.edu.ar/cyt/exactas/e.021.pdf>. [Fecha de consulta] 6 de marzo de 2010.

Candioti, Mario César, Érica Hynes, Andrea Quiberoni, Susana Beatriz Palma, Nora Sabbag, and Carlos Antonio Zalazar. (2002). Reggianito Argentino cheese: influence of *Lactobacillus helveticus* strains isolated from natural whey cultures on cheese making and ripening processes. International Dairy Journal 12:923–931

Dervisoglu, Muhammed, and Oğuz Aydemir. (2007). Physicochemical and microbiological characteristics of Kulek cheese made from raw and heat-treated milk. World J Microbiol Biotechnol 23:451–460.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2008). “Promotion of Traditional Regional Agricultural and Food Products: A Further Step Towards Sustainable Rural Development”; 26ª Conferencia Regional de la FAO para Europa; Innsbruck (Austria); 26-27 de junio; Punto Agenda 11. Disponible en: www.fao.org [Fecha de consulta] 26 de marzo de 2013.

Fonte, Maria Teresa Acampora, y Viviana Sacco. 2006. Desarrollo rural e identidad cultural: reflexiones teóricas y casos empíricos. RIMISP – Territorios con identidad cultural. Disponible en:

<http://www.rimisp.org/getdoc.php?docid=5102> [Fecha de consulta] 12 de marzo de 2015.

García, Mercedes (2005). Potencialidades y limitantes de la agroindustria rural quesera en la parroquia Moroturo, Estado Lara. Centro de Investigaciones Agrícolas del Estado Lara (INIA). pp 42–45. Disponible en: http://www.ceniap.gov.ve/pbd/RevistasTecnicas/inia_divulga/numero%204/garcia_m.pdf. [Fecha de consulta] 10 de octubre de 2014.

Goodman Leo (1961). *Snowball Sampling, Annals of Mathematical Statistics*, 32:148-170.

Hernández, Morales Carolina, Arturo Hernández Montes, Abraham Z. Villegas de Gante, y Eleazar Aguirre Mandujano. (2011). El proceso socio-técnico de producción de Queso Añejo de Zacazonapan, Estado de México. *Rev. Méx. Cienc. Pecu.* 2:161-176.

INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática) (2005). *Carta de uso actual del suelo y vegetación*. Serie III. México.

Macazaga, Ordoño Cesar. (1979). *Diccionario de la lengua náhuatl*. Editorial Innovación. México.

Oyarzún, María Teresa, y Florence Tartanac. (2002). *Estudio sobre los principales tipos de sellos de calidad en alimentos a nivel mundial; Estado actual y perspectivas de los sellos de calidad en productos alimenticios de la agroindustria rural en América Latina*. Organización de las Naciones Unidas

para la Agricultura y la Alimentación (FAO), oficina regional para América latina y el caribe. Santiago de Chile.

Palacio, Carlos, y Olga Myriam Vasek, Ángel José Vicente Fusco. 2002. Efecto de la temperatura en el tiempo de maduración de la cuajada durante la elaboración de Queso Artesanal de Corrientes. Disponible en: <http://www1.unne.edu.ar/cyt/2002/08-Exactas/E-009.pdf>. [Fecha de consulta] 06 de abril de 2015.

Ramírez, Navas Juan Sebastián (2010). Queso molido nariñense. *Tecnología Láctea Latinoamericana* 59:56-59.

Riveros, Hernando, Emili Vandecandelaere, Florence Tartanac, Claudia Ruíz, y Gina Pancorbo. 2008. Calidad de los Alimentos vinculada al Origen y las tradiciones en América Latina: estudios de casos. Lima, FAO - IICA. 98p.

Solis-Méndez, Alejandra Donaji, Raquel Martínez Loperena, Javier Solorio Sánchez, y Julieta Gertrudis Estrada Flores, Francisca Avilés Nova, Ana Tarin Gutiérrez Ibañez, y Octavio Alonso Castelán Ortega. 2013. Características del queso Tepeque de la Tierra Caliente de Michoacán: un queso producido en un sistema silvopastoril intensivo. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 16: 201-214.

SSA Secretaria de Salud (1994). Norma Oficial Mexicana. NOM-109-SSA1-1994. Bienes y servicios. *Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico*.

Van de Kop, Petra, Denis Sautier, and Astrid Gerz. (2006). "Origin-Based Products: lessons for pro-poor market development"; KIT y CIRAD; Amsterdam (Países Bajos), París (Francia); Disponible en: <http://www.narcis.nl/publication/RecordID/oai:search4dev.nl:281684> [Fecha de consulta] 23 de junio de 2014.

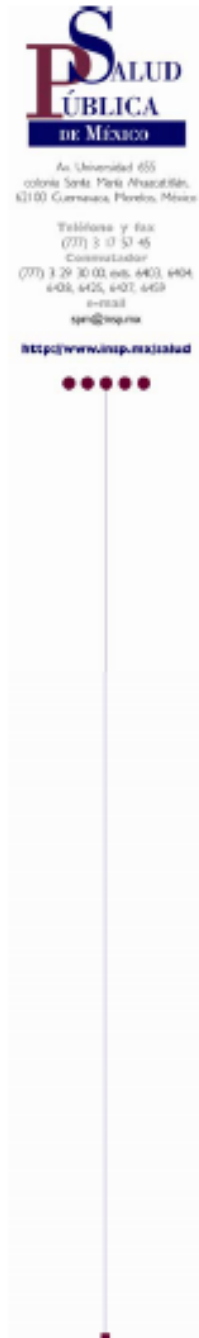
Vandecandelaere, Emili, Filippo Arfini, Giovanni Belletti, and Andrea Marescotti, (eds) 2010. Linking People, Places and Products: A guide for promoting quality linked to geographical origin and sustainable geographical indications. Rome-Italy, FAO - Siner-GI. 193p.

Villegas, Abraham. 2012. Los quesos mexicanos genuinos (Necesidad de su rescate y revalorización). *In*: Fernando Cervantes y Abraham Villegas. La leche y los quesos artesanales en México. México. Editorial Miguel Ángel Porrúa. pp: 123- 142.

Villegas, Abraham, y Fernando Cervantes. 2011. La genuinidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales mexicanos. *Estudios Sociales*. 19: 145-164.

8.3 Artículo enviado a Salud Pública de México

8.3.1 Carta de recepción



Cuernavaca, Mor., 28 de enero de 2016

Referencia: 15297

Título: Diagnóstico de la calidad sanitaria en las queserías artesanales del municipio de Zacazonapan, estado de México y del producto final. Sánchez-Valdés JJ, Colín-Navarro V, López-González F, Avilés-Nova F, Castelán-Ortega O, Estrada-Flores JG.

Dra. Julieta Gertrudis Estrada Flores
Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales
Universidad Autónoma del Estado de México, UAEM
jgestradaf@uamex.mx

Estimada doctora Estrada:

Respecto al artículo de referencia, el cual envió a Salud Pública de México para su posible publicación, le comunicamos que nuestros revisores han encontrado observaciones mayores a su manuscrito. Por este motivo, su trabajo sólo podrá continuar con el proceso de evaluación correspondiente si da una respuesta puntual a cada una de las observaciones que se anexan.

Por otro lado, le solicitamos que en la nueva versión de su trabajo sean resueltos los siguientes aspectos editoriales:

1. Enviar una declaración de conflicto de intereses de cada uno de los autores, de acuerdo con el formato anexo.
2. Citar grados académicos de todos los autores.
3. El abstract requiere una revisión especializada de la redacción.
4. Las palabras clave *queserías artesanales*, *bacterias mesófilas aerobias*, *coliformes totales*, *artisan dairies*, *molds*, *aerobic mesophilic bacteria* y *total coliforms* no están incluidas en los Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS); se sugiere hacer una revisión de las palabras clave propuestas en <http://decs.bvs.br/E/homepagee.htm>
5. Mencionar, en el apartado de Material y Métodos cuál fue el Comité de Evaluación Ética que revisó el protocolo de investigación del manuscrito y que se obtuvo el consentimiento informado de los sujetos participantes en el estudio. También deberán indicar la fecha y el lugar en que se realizó el estudio.
6. Atender los siguientes aspectos en la sección de referencias:
 - La referencia 10 se utiliza para todas las normas en general; favor de construir una referencia para cada norma: poner el nombre específico de cada una y los datos correspondientes. Favor de asegurarse de que al hacer el cambio, el resto de las referencias sigan un orden consecutivo y correspondan con las menciones en el texto.
 - Las referencias 4, 7, 9 y 11 no están en el formato requerido.
 - La referencia 23 está incompleta y el enlace no funciona. Favor de ajustar las referencias al formato correspondiente y completar los campos faltantes.
7. El texto contiene abreviaturas que no están desatadas. La redacción es poco especializada y con errores sintácticos considerables (sobre todo en la sección de análisis realizados). En la sección de discusión, la redacción es fragmentada.
8. En los cuadros deberá incluir el lugar y fecha del origen de los datos.

La nueva versión deberá ser enviada en formato electrónico a la cuenta spm@insp.mx, en un plazo no mayor a 30 días, posteriores a la recepción de esta comunicación.

Los cambios antes mencionados, así como las modificaciones en el texto derivadas de las observaciones de nuestros revisores, deberán ir **resaltados en negritas**; adicionalmente, deberá



Av. Universidad 655
colonia Santa María Ahzacatlán,
62100 Cuernavaca, Morelos, México

Teléfono y fax
(771) 3 03 53 46
Comunicador
(771) 3 29 30 00, exts. 6403, 6404,
6405, 6425, 6407, 6409
6-10333
sp@imp.mx

<http://www.imp.mx/salud>



anexar al manuscrito una carta en la que se expliquen punto por punto las modificaciones realizadas, de tal forma que se reproduzca cada uno de los comentarios y su respectiva respuesta.

Salud Pública de México dará por terminado el proceso de revisión por pares hasta que hayan sido satisfechos los cambios requeridos; por ello, se reserva la posibilidad de hacerle llegar comentarios adicionales, si así lo considera necesario, en cualquier momento antes de que sea tomada una decisión final.

Es importante mencionar que en caso de que se omita cualquiera de estos requisitos, Salud Pública de México no podrá continuar con el proceso de evaluación correspondiente.

En espera de su pronta respuesta, agradecemos su interés y nos reiteramos a sus órdenes.

Atentamente

Carlos Oropeza Abúndez
Editor Ejecutivo

8.3.2 Carta de aceptación



Cuernavaca, Mor., 30 de marzo de 2016

Referencia: 15297
Título: Diagnóstico de la calidad sanitaria en las queserías artesanales del municipio de Zacazonapan, estado de México y del producto final. Sánchez-Valdés JJ, Colín-Navarro V, López-González F, Avilés-Nova F, Castellán-Ortega O, Estrada-Flores JG.

Dra. Julieta Gertrudis Estrada Flores
Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales
Universidad Autónoma del Estado de México, UAEM
jgestradaf@usemex.mx

Estimada doctora Estrada:

En relación con el artículo de referencia, le comunicamos que ha sido aceptado para publicación en Salud Pública de México.

A partir de esta comunicación, el área de edición de la revista será la encargada del proceso de publicación correspondiente y quien mantendrá contacto con usted para dar seguimiento al mismo. En esta fase puede dirigirse a los correos electrónicos spmedicion@insp.mx o jreveles@insp.mx.

Cabe mencionar que, de considerarlo necesario, el área encargada le solicitará los ajustes editoriales pertinentes.

Reciba un cordial saludo y le invitamos a que continúe enviándonos sus colaboraciones.

Atentamente,

Carlos Oropeza Abúndez
Editor Ejecutivo

8.3.3 Diagnostico de la calidad sanitaria en las queserías artesanales del municipio de Zacazonapan, Estado de México y del producto final.

Diagnostico de la calidad sanitaria en las queserías artesanales del municipio de Zacazonapan, Estado de México y del producto final.

Diagnostic of health quality in artisanal cheese dairies of Zacazonapan municipality, State of Mexico and the final product.

Calidad sanitaria de queserías artesanales

M. en C. C. Dr. Jair Jesús Sánchez-Valdés Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales. UAEM.

M. en C. Vianey Colín-Navarro. Centro Universitario Temascaltepec. UAEM

Dr. Felipe López-González. Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales. UAEM

Dra. Francisca Avilés-Nova. Centro Universitario Temascaltepec. UAEM

PhD. Octavio Alonso Castelán-Ortega. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UAEM

Dra. Julieta Gertrudis Estrada-Flores*. Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales. UAEM

Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto Literario No. 100, Colonia Centro. CP. 50000. Toluca, México.

* Corresponding author: jgestradaf@uaemex.mx

Resumen

Objetivo. Determinar la prevalencia y el grado de contaminación por mohos y levaduras (M&L), bacterias mesófilas aerobias (BMA), coliformes totales (CT) y *Salmonella* spp. (S) como indicadores de calidad e higiene en el entorno de fabricación del queso de Zacazonapan. **Material y métodos.** En cinco queserías se obtuvieron muestras de agua, leche, cuajo, queso, manos, superficies de los utensilios que están en contacto con el queso. **Resultados.** Todas las superficies presentaron contaminación, se observa la falta de higiene al elaborar el queso, los conteos durante la elaboración de queso fueron: Para leche de 6.8, 6.7 y 4.5 log₁₀ UFC/ml para M&L, BMA y CT respectivamente. En queso, se detectó la presencia de S y presentó cuentas de 9.16, 9.23 y 9.18 log₁₀ UFC/g para M&L, BMA y CT. **Conclusiones.** La poca higiene en queserías y utensilios al elaborar el queso representa un riesgo para la salud humana.

Palabras clave: Salud pública, mohos, levaduras, bacterias, *Salmonella*, utensilios.

Abstrac

Objective. To determine the prevalence and the degree of contamination by molds and yeasts (M&Y), aerobic mesophilic bacteria (AMB), total coliforms (TC) and *Salmonella* spp. (S). These microorganisms were considered indicators of quality and hygiene in the manufacturing environment of Zacazonapan cheese. Materials and methods. Samples from five cheese dairies at Zacazonapan municipality were collected. The samples were collected directly from hands, water, milk, curd, cheese and surface of utensils for cheese making. Results. All surfaces sampled were contaminated, there was an evident lack of hygiene in the cheese making process, the microorganisms counting during cheese manufacturing were: for milk; 6.8, 6.7 and 4.5 log₁₀ CFU/ml for M&L, BMA and CT respectively. For cheese, the presence of S was detected and presented the following counting: 9.16, 9.23 and 9.18 log₁₀ CFU/g to M&L, BMA and CT. Conclusions. The lack of hygiene in dairies and implements for cheese manufacturing represented a risk for human health.

Keywords: Public health, molds, yeast, bacteria, *Salmonella*, utensils.

Introducción

En México, como en otros países en desarrollo, a la par con la economía del estado existe una economía informal vinculada a la utilización de recursos genéticos locales, entre cuyas actividades se encuentra la venta de alimentos en la vía pública. Esta forma de ofrecer los alimentos a los consumidores puede ser de alto riesgo sanitario, se incrementa el riesgo de contraer enfermedades transmitidas por alimentos, ya que las condiciones en que se expenden dichos productos no son apropiadas, porque favorecen la contaminación microbiológica. Los productos artesanales por su tradición y el compendio de características sensoriales que poseen, gozan de una alta aceptación entre la población Mexicana.¹ La producción artesanal de quesos en México es muy variada, se conocen al menos 40 diferentes tipos de queso destacando la producción de quesos frescos. También se producen quesos maduros como el queso Cotija de la sierra de JALMICH, el queso adobera, el queso maduro de Veracruz y en el sur del Estado de México el queso Zacazonapan tanto fresco como maduro.²

El queso artesanal se elabora a partir de leche cruda por lo general de vacas criollas, con fermentación espontánea y corta maduración usando metodologías muy rudimentarias, no estandarizadas. Dentro de la gama de productos lácteos elaborados, el queso fresco es el que cuenta con mayor número de microorganismos patógenos al momento de ser comercializado. Por esta razón se le asocia con mayor frecuencia con brotes de intoxicación alimentaria.³

En los quesos frescos, los hongos representan una forma de alteración⁴, su crecimiento origina problemas de tipo comercial (producen olores indeseables, cambios en la textura y en el interior de los quesos lo que se traduce en pérdida

de categoría e incluso en el rechazo total del producto) y de tipo sanitario por la posible producción de metabolitos tóxicos.⁵

Los microorganismos contaminantes, que representan riesgo a la salud humana, que generalmente están presentes en derivados lácteos son *Escherichia coli* O157:H7 y otros coliformes fecales, *Clostridium botulinum*, *C. perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* tipo emético, *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella sp.*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, entre otras.⁶ Su presencia en queso depende de la calidad y del tratamiento térmico de la leche, la limpieza en general de la quesería, la calidad de los cultivos, del manejo de la cuajada durante el procesamiento, de la temperatura de almacenamiento, transporte y distribución del queso.⁷ No obstante, los alimentos también se pueden contaminar en los distintos eslabones de la cadena alimentaria, incluidos los hogares y expendios de alimentos preparados para el consumo.⁸

Al consumir alimentos contaminados principalmente con materia fecal, provocan enfermedades gastrointestinales; las infecciones agudas del tracto gastrointestinal figuran entre las enfermedades infecciosas más frecuentes. De acuerdo con estadísticas del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), las infecciones, como gastroenteritis, salmonelosis, tifoidea, cólera y rotavirus representan un severo problema de salud pública para nuestro país.⁹

Las enfermedades pueden presentarse en cualquier época del año, pero el riesgo de sufrir éstas se incrementa en época de calor. Las manifestaciones clínicas más frecuentes son: fiebre, vómito, dolor abdominal y diarrea moderada o intensa.¹⁰

Zacazonapan junto con otros ocho municipios pertenece a la Jurisdicción Sanitaria

de Valle de Bravo, en la cual es común la distribución de quesos. De acuerdo con los reportes emitidos para ésta Jurisdicción en el Boletín Epidemiológico del Instituto de Salud del Estado de México,¹¹ las enfermedades infecciosas y parasitarias del aparato digestivo que se registraron en el 2010 fueron fiebre tifoidea con 2 casos, paratifoidea y salmonelosis con 178 casos, Shigelosis 32 casos, infecciones intestinales causadas por otros organismos y especies con 15,889 casos. En el periodo en el que se realizó el trabajo se reportaron 51 casos de salmonelosis y 3581 casos de infecciones intestinales. Sin embargo, no existen reportes específicos de que estos casos hayan sido ocasionados por el consumo de quesos.

En el caso del queso producido en Zacazonapan, las características propias del queso de esta zona, así como las condiciones que prevalecen en las queserías hacen que este producto sea un sustrato ideal para el desarrollo de microorganismos que puedan causar intoxicaciones en el consumidor. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue identificar el grado de contaminación por mohos y levaduras (M&L), bacterias mesófilas aerobias (BMA), coliformes totales (CT) y *Salmonella* spp. (S) como indicadores de calidad e higiene en el entorno de fabricación del queso de Zacazonapan para poder recomendar e implementar prácticas que ayuden a mejorar las condiciones higiénicas de elaboración sin que se pierdan las características de los quesos.

Material y Métodos

Zona de estudio

Este estudio se llevó a cabo de noviembre de 2010 a febrero de 2011 en cinco de siete queserías del municipio de Zacazonapan, se localiza entre los paralelos 19°

00' 17" y 19° 16' 17" de latitud norte y entre los meridianos 100° 12' 55" y 100° 18' 13" de longitud oeste, a una altura de 1470 m.s.n.m., la temperatura media anual es de 23°C, con una precipitación de 1041.8 mm al año¹². Esta investigación se realizó bajo la supervisión y lineamientos del Comité de Ética y Bienestar Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México; además se obtuvo el consentimiento informado de los participantes para este proyecto.

Toma y Preparación de Muestras

Siguiendo las recomendaciones del PROYECTO de NOM 109,¹³ se tomaron muestras con hisopos de algodón esterilizados de utensilios y manos de los queseros, también muestras de agua, leche y queso; todas las muestras se transportaron en contenedores estériles cerrados a 4°C para su posterior análisis de laboratorio. De las manos y de cada uno de los utensilios se tomaron al menos 10 muestras. En laboratorio, las muestras se prepararon mediante el método de diluciones en agua peptonada siguiendo las recomendaciones de la NOM 110.¹⁴

Análisis realizados

La presencia de M&L se determinó con la NOM 111,¹⁵ a través del conteo en placa con agar papa dextrosa después de la incubación a 25°C por 48h. Las BMA de acuerdo a la NOM 092¹⁶ usando agar triptona con extracto de levadura incubado a 35°C por 48h. Los CT en placa de acuerdo con la NOM 113¹⁷ usando agar bilis rojo violeta y la incubación a 35°C por 24h. La presencia de S en queso con la NOM 114¹⁸ en agar Salmonella Shigella incubados por 48h a 35°C.

Análisis estadístico

Los resultados de los análisis microbiológicos realizados se transformaron a \log_{10} UFC/g o mL, y se analizaron bajo dos experimentos. En el primero, se comparó el material de fabricación de los utensilios (plástico, madera, metal y material mineral), y en el segundo se analizó la calidad del producto final y los insumos (leche, cuajo, suero y queso).

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar en ambos casos mediante el siguiente modelo general lineal:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable respuesta

μ = media general de cada parámetro

τ_i = material (plástico, piedra, madera, metal); muestra (leche, cuajo, suero y queso)

ϵ_{ij} = error residual

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) utilizando el comando del modelo general lineal del software estadístico Statgraphics v16.¹⁹ Cuando se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) se aplicó la prueba de LSD.

Resultados

Condiciones ambientales de la zona de producción

La Figura 1 muestra la evolución de la temperatura y la precipitación en la zona de producción de queso, durante este periodo es notoria la ausencia de precipitación.

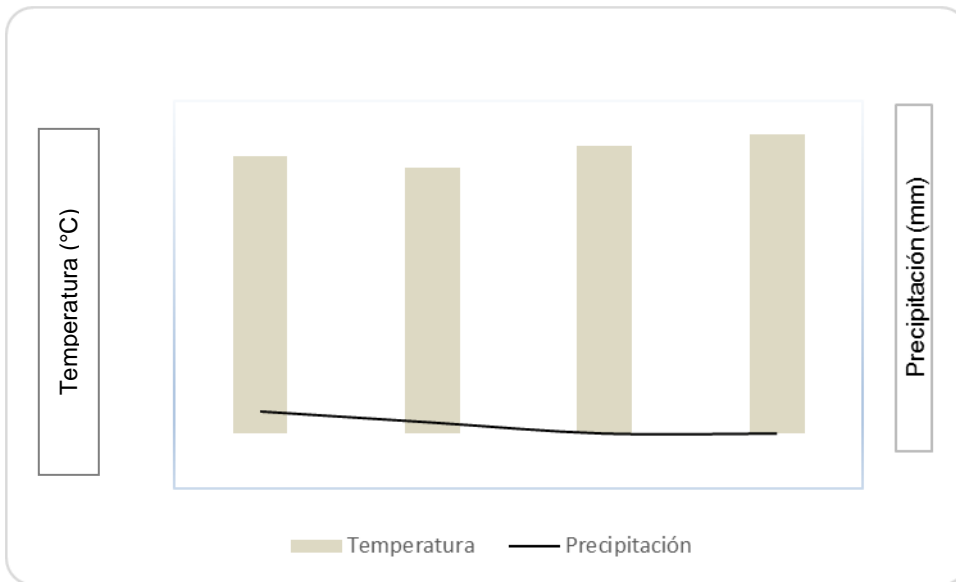


Figura 1.

TEMPERATURA Y PRECIPITACIÓN EN ZACAZONAPAN DE NOVIEMBRE DE 2010 A FEBRERO DE 2011.

Fuente: elaboración propia tomada de datos de campo

El Cuadro I muestra los resultados de los análisis realizados al agua utilizada para la limpieza en la quesería así como la limpieza de las manos de la persona que elabora el queso. El agua usada es de manantial que se lleva a las queserías a través de poliductos pero sin recibir tratamiento de potabilización, en las queserías se almacena en pilas de cemento que están ubicadas afuera del lugar donde el queso es elaborado, los utensilios se lavan con ésta agua y es la misma que usan para lavar la ropa y manos.

Cuadro I.

RECUENTOS (\log_{10} UFC/mL) MICROBIANOS REALIZADOS A AGUA Y MANOS

Muestra	M&L	BMA	CT
	(Promedio \pm D.E.)		
Agua	3.50 \pm 3.21	5.10 \pm 2.96	1.25 \pm 2.80
Manos	5.07 \pm 2.84	4.99 \pm 2.80	3.66 \pm 3.35

M&L: mohos y levaduras, BMA: bacterias mesófilas aerobias, CT: coliformes totales, UFC/mL: unidades formadoras de colonias por mililitro. D.E.: Desviación estándar.

Fuente: elaboración propia con base en resultados obtenidos de muestreo realizado de noviembre de 2010 a febrero de 2011.

En el Cuadro II se muestran los resultados de los conteos realizados a las superficies de los utensilios que entran en contacto con el queso durante la elaboración, clasificados de acuerdo al material con el que están fabricados. Durante la visita a las queserías se observó que no todas las queseras utilizan los mismos utensilios durante el proceso de elaboración, las desviaciones estándar observadas dan cuenta de las variaciones que hay entre productores. Los utensilios de plástico utilizados son charolas, tinas, cubetas, botes, cucharas, coladores y moldes de aro (todos son de plástico común no de grado alimenticio), los de metal son cuchillos o cucharas, los utensilios de madera incluyen la mesa de trabajo, cucharas y molde rectangular para queso y los de material mineral incluyen el metate que es fabricado en piedra de volcán, jarros y cazuelas de barro.

Cuadro II.

RECUENTOS (\log_{10} UFC/mL) MICROBIANOS EN UTENSILIOS

Material	M&L	BMA	CT
	(Promedio \pm D.E.)		
Plástico	3.89 \pm 2.82	4.25 \pm 1.93	3.00 \pm 2.67
Madera	3.07 \pm 4.33	2.41 \pm 3.41	2.35 \pm 3.32
Metal	5.88 \pm 0.00	6.12 \pm 0.00	3.86 \pm 0.00
Material mineral	1.40 \pm 1.37	1.56 \pm 1.09	0.00 \pm 0.00
Promedio*	2.80 \pm 2.56	3.33 \pm 2.24	1.80 \pm 2.59
Valor de P	NS	NS	NS

M&L: mohos y levaduras, BMA: bacterias mesófilas aerobias, CT: coliformes totales, UFC/mL: unidades formadoras de colonias por mililitro, D.E.: desviación estándar, NS: no significativo. * obtenido del total de los utensilios muestreados.

Fuente: elaboración propia con base en resultados obtenidos de muestreo realizado de noviembre de 2010 a febrero de 2011

El Cuadro III presenta los resultados obtenidos de los análisis realizados a la leche, cuajo, suero y queso. El cuajo que se utiliza para la elaboración del queso, se obtiene del abomaso de becerros de la región, para prepararlo lo lavan con abundante agua, lo secan al sol y le adicionan sal para su conservación. Las cuentas observadas indican que el proceso de lavado y conservación no está bien realizado, ya que al secarlo al sol, atrae insectos, por ejemplo moscas las cuales recontaminan el cuajo.

Cuadro III.

RECUENTOS (\log_{10} UFC/g ó mL) MICROBIANOS EN LECHE, AGUA, CUAJO Y QUESO FRESCO ZACAZONAPAN.

Muestra	M&L	BMA	CT	S
(Promedio \pm D.E.)				
Leche	6.83 \pm 0.27 ^{ab}	6.76 \pm 0.67 ^{ab}	4.50 \pm 3.96 ^a	ND
Cuajo	2.56 \pm 4.44 ^a	4.99 \pm 2.92 ^a	0.29 \pm 0.51 ^a	ND
Suero	4.38 \pm 4.03 ^a	5.06 \pm 3.50 ^a	3.96 \pm 3.71 ^a	ND
Queso	9.26 \pm 0.11 ^b	9.26 \pm 0.35 ^b	9.27 \pm 0.11 ^b	PRESENTE

M&L: mohos y levaduras, BMA: bacterias mesófilas aerobias, CT: coliformes totales, S: *Salmonella* spp. UFC/g ó mL: unidades formadoras de colonias por gramo o mililitro. D.E.: desviación estándar. ND: no determinado.

Literales diferentes entre columnas, presentan diferencias significativas ($P < 0.05$).

Fuente: elaboración propia con base en resultados obtenidos de muestreo realizado de noviembre de 2010 a febrero de 2011.

Discusión

La NOM 251²⁰ señala que el agua que esté en contacto directo con alimentos, materias primas, superficies, debe ser potable, el límite permisible de cloro residual libre debe ser de 0.2 a 1.5 mg/L, los organismos coliformes totales deben estar ausentes o no detectables de acuerdo a la NOM 127²¹, en el Cuadro I se observa que no se cumple con la normatividad, por lo que se recomienda utilizar cloro en cantidades adecuadas para solucionar esta situación.

El lavado y desinfección de manos es una actividad que debe hacerse de manera obligatoria en todo el personal que está en contacto directo con alimentos (apartado 5.12.4 de la NOM 251²⁰). Sin embargo; en las visitas realizadas a las

queseras se observó que la mayoría no realizan bien esta actividad y se lavan con el agua de la pila, no utilizan tampoco alcohol o algún desinfectante antes de comenzar a trabajar en la elaboración del queso, solo una quesera si desinfectaba el agua y sus manos antes de comenzar con el proceso. Al ser una actividad complementaria, las queseras realizan a la par de la elaboración del queso las labores propias del hogar, es decir lavan ropa, preparan los alimentos para la familia, realizan la limpieza de la casa.

De acuerdo al ANDEVA realizado no existen diferencias significativas entre los utensilios de acuerdo al tipo de material (Cuadro II); sin embargo, los materiales que más contaminación presentaron fueron los que están fabricados en plástico (molde de aro de PVC, los botes para la cuajada de la leche y los coladores) y en metal. Los promedios por grupo de microorganismos analizados fueron $2.80 \log_{10}$ UFC para M&L, $3.33 \log_{10}$ UFC para BMA y $1.80 \log_{10}$ UFC para CT, superando lo establecido en la NOM 251²⁰ para instalaciones. Fente-Sampayo *et al.*²² encontraron hasta 10 diferentes géneros de hongos en superficies de utensilios que están en contacto con los quesos en queserías de Arzua, en España.

La NOM 251,²⁰ establece los requisitos de utensilios y lugares donde se elaboran los alimentos. En el Cuadro II se observa el grado de contaminación de los utensilios, por lo cual es necesario realizar acciones para mejorar estas condiciones pues es ampliamente conocido que el consumo de alimentos elaborados con deficientes prácticas de higiene representan un riesgo para la salud del consumidor.²³ Durante las visitas se observó que las mesas de trabajo y todos los utensilios implicados en la elaboración solo se lavan con agua y jabón y en ocasiones solo les pasan un trapo húmedo para retirarles el polvo

principalmente a los utensilios de plástico y metal, según Sharma *et al.*²⁴ el uso de trapos o esponjas son los principales diseminadores de la contaminación cruzada en alimentos, esto se debe a que los trapos no son desinfectados adecuadamente y pasan los microorganismos a los utensilios que se utilizan en la elaboración del queso. Esto también es reportado por Romero-Castillo *et al.*,²⁵ para queso crema tropical en Chiapas, donde los locales muestreados elaboraban quesos con leche sin pasteurizar y carecen de buenas prácticas de higiene en instalaciones, equipos y personal.

Las desviaciones estándar observadas dan cuenta de las variaciones que existen entre queseros, los conteos observados en los utensilios pueden ser ocasionadas por contaminación cruzada²⁶ por lo que es necesario capacitar a los productores de quesos para que se implementen mejores prácticas de higiene en el proceso de elaboración, realizar con ellos talleres para identificar los puntos críticos de control en la producción del queso, realizar desinfecciones rutinarias a los utensilios que se ocupan y hacer conciencia del uso de agua potable en la limpieza y desinfección de los utensilios y el uso de alcohol para desinfectar las manos antes de empezar la elaboración del queso. Las condiciones ambientales presentes en el tiempo en el que se llevó a cabo el estudio pueden favorecer el crecimiento de los microorganismos, especialmente la temperatura que nunca fue menor a 20°C, aunque no se registró la presencia de lluvias (Figura I).

Los resultados obtenidos en leche, cuajo, suero y queso (Cuadro III) son similares a los reportados en otras zonas productoras de queso en México y en el mundo. En Argentina, Vasek *et al.*²⁷ en queso de Corrientes, reportan conteos de 4.85 UFC para mohos y levaduras y 4.37 UFC para coliformes en el agente coagulante,

lo cual indica que presenta una calidad inferior a lo encontrado en el Cuajo utilizado en Zacazonapan.

El ANDEVA mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) para leche y queso con respecto a las cuentas para M&L, BMA y CT. El queso obtenido al final del proceso presenta conteos de $9.26 \log_{10}$ UFC para M&L, $9.26 \log_{10}$ UFC para BMA, $9.27 \log_{10}$ UFC para CT y se detectó la presencia de S en queso, superando lo establecido en la NOM 243²⁸ para quesos. Los conteos de M&L son similares a los reportados en quesos frescos de México por otros autores^{29, 30}. En Argentina, Vasek *et al.*²⁷ reportan cuentas de $3.66 \log_{10}$ UFC para leche y $5.44 \log_{10}$ UFC para queso de Corrientes.

Las cuentas para BMA en el queso crema de Chiapas²⁵ promediaron $7 \log_{10}$ UFC y $6.8 \log_{10}$ UFC en el queso fresco de Tuzuapan¹. En queso de Corrientes se reportan $6.47 \log_{10}$ UFC para leche y $9.76 \log_{10}$ UFC para queso.²⁷

La NOM 243²⁸ considera también que dentro de las BMA pueden encontrarse bacterias que son de gran ayuda en la producción de los aromas, textura y sabores del queso destacando las bacterias ácido lácticas.

Los conteos de los CT superan a las $2.98 \log_{10}$ UFC de queso fresco de Tuzuapan,¹ en queso Oaxaca del altiplano mexicano se obtuvieron conteos de $8.3 \log_{10}$ UFC para leche y $9.0 \log_{10}$ UFC para queso²⁹, Hernández y Duran³¹ no detectaron la presencia de coliformes en el queso poro de Tabasco, México.

Los análisis determinaron la presencia de S en queso fresco (Cuadro III), *Salmonella* spp. no ha sido detectada en quesos mexicanos frescos,³² excepto en el queso crema tropical del estado de Chiapas, México; su presencia se asocia a la elaboración de productos con leche no pasteurizada.^{25, 33, 34}

La presencia de M&L, BMA y CT en la leche ocurre en la ordeña y se debe a las condiciones precarias en las que se realiza o en la quesería debido a la mala desinfección de los botes utilizados para la cuajada. Aunque *Salmonella* spp. no se determinó en la leche, cuajo y suero y se determinó su presencia en el queso, puede deberse a la contaminación final directa o indirecta del personal que elabora el producto.³² Un aspecto a considerar es que en este estudio no se realizaron exudados faríngeos ni hisopos rectales a las quesearas, que pudieran aportar información de la presencia de portadores sanos de *Salmonella* spp.

Cabrera *et al.*³⁵ encontraron que los quesos artesanales de Corrientes, Argentina, eran elaborados a partir de leche cruda entera, utilizando materiales, utensilios y procedimientos muy rudimentarios, bajo condiciones higiénico-sanitarias deficientes. Diversos estudios han demostrado la presencia de microorganismos contaminantes en queserías, se ha reportado que los quesos pueden contaminarse por bacterias que sobreviven en el medio, en los equipos, instalaciones, salas de maduración y almacenamiento.^{36, 37} Se ha indicado incluso que los refrigeradores, han sido fuentes de contaminación de *L. monocytogenes* en quesos elaborados con leche pasteurizada.³⁸ A pesar de esto, Hernández y Duran³¹ indican que, aunque en el proceso de elaboración no se cumplan con las condiciones higiénicas sanitarias en utensilios y suministros, es posible que el producto final logre cumplir con los requerimientos sanitarios, si se les da un tiempo de maduración en condiciones controladas.

Aunque existe riesgo de adquirir enfermedades transmitidas por alimentos, la biodiversidad de la microflora indígena que envuelve a los quesos elaborados con leche cruda puede ser considerada un aspecto fundamental para mantener las

características típicas de los quesos tradicionales.^{39, 40} En este tipo de trabajos se recomienda como un objetivo secundario implementar prácticas que ayuden a mejorar las condiciones higiénicas de elaboración del queso una vez obtenidos los resultados iniciales y llevar a cabo las recomendaciones antes mencionadas con la finalidad de continuar con la producción de quesos artesanales pero en mejores condiciones higiénicas.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer a los queseros del municipio de Zacazonapan por el apoyo brindado, al *Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología* (CONACYT) por la subvención de un estudiante que ayudo en sus estudios de posgrado y a la Universidad Autónoma del Estado de México por el apoyo económico a través del proyecto UAEM 3101/2011.

Conflicto de intereses. Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Conclusiones

De acuerdo con los resultados obtenidos, los conteos de mohos y levaduras, mesófilos aerobios y coliformes totales observados, indican la poca higiene que se tiene en los locales y en los utensilios que se usan en la elaboración del queso.

El queso Zacazonapan es un producto de gran tradición en la zona sur del estado de México, por lo que se hace necesario realizar acciones para que se elaboren quesos más seguros que no representen riesgo de transmitir enfermedades, por ejemplo, concientizar a los productores de leche y queso sobre la importancia de la higiene en las labores que realizan, fomentar acciones en el personal que labora

en queserías entre ellas: el uso de ropa adecuada en el trabajo, la desinfección de manos, uso de agua potable, desinfección de la mesa y utensilios de trabajo.

Referencias

1. Reséndiz MR, Hernández ZJS, Ramírez HR, Pérez AR. El queso fresco artesanal de la canasta básica y su calidad sanitaria en Tuzuapan, México. *Acta Iberoamericana de Conservación Animal*. 2012; 2:253-255.
2. Villegas de Gante A, Cervantes EF. La genuinidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales mexicanos. *Estudios Sociales*. 2011; 19:145-164.
3. Caballero TA, Carrera VA, Legomin FE. Evaluación de la Vigilancia Microbiológica de alimentos que se venden en las calles. *Rev Cubana Aliment Nutr*. 1998; 12:7-10.
4. Lück H. Quality control in the Dairy Industry. En: Robinson RK, comp. *Dairy microbiology*. London: Elsevier Science Publishers, 1990.
5. Taniwaki MH, Van Dender AGF. Occurrence of Toxigenic molds in Brazilian cheese. *J Food Protection*. 1992; 3:187-191.
6. González T, Rojas RHA. Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. *Salud Pública Méx*. 2005; 47:388-390.
7. Farkye NY. Microbiology of soft cheese. En: Robinson RR, comp. *Dairy microbiology handbook*. USA: Inc. New York, 2002:479–513.
8. Mercado CE. Los ámbitos normativos, la gestión de la calidad y la inocuidad alimentaria: una visión integral. *Agroalimentaria*. 2007; 12:119-131.

9. Hernández CC, Aguilera AG, Castro EG. Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enf Inf Microbiol* 2011;31:137-151.
10. Vila J, Álvarez-Martínez MJ, Buesa J, Castillo J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2009;27:406-411.
11. Boletín Epidemiológico [sitio en internet]. Instituto de Salud del Estado de México. Gobierno del Estado de México. 2016. [Consultado en febrero de 2016]. Disponible en: <http://salud.edomexico.gob.mx/subepi/archivos/2012/bol-3912.pdf>
12. García E. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen, adaptado para las condiciones de la República Mexicana. 3a edición. México: Editorial Instituto de Geografía. UNAM, 1981;vol.6:92.
13. Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994. Bienes y servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Publicada en el Diario de la Federación el 4 de noviembre de 1994. México: DOF, 1994.
14. Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Para la preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Publicada en el Diario de la Federación el 28 de abril de 1994. México: DOF, 1994.
15. Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Publicada en el Diario de la Federación el 28 de abril de 1994. México: DOF, 1994.

16. Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Publicada en el Diario de la Federación el 23 de marzo de 1994. México: DOF, 1994.
17. Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. Publicada en el Diario de la Federación el 28 de abril de 1994. México: DOF, 1994.
18. Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de salmonella en alimentos. Publicada en el Diario de la Federación el 28 de abril de 1994. México: DOF, 1994.
19. Statgraphics Inc. Paquete Estadístico para Windows. Versión 17 USA: Statgraphics Inc. 2014.
20. Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009. Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. Publicada en el Diario de la Federación el 10 de octubre de 2008. México: DOF, 2008.
21. Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. [Modificación] Salud Ambiental, agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Publicada en el Diario de la Federación el 22 de noviembre de 2000. México: DOF, 2000.
22. Fente-Sampayo CA, Vázquez-Belda B., Rodríguez-Otero JL, Franco-Abuin C, Quinto-Fernandez E, Cepeda-Saez A. Microflora predominante en las queserías de Arzúa (España). Ciencia y Tecnología Alimentaria. 2002; 3:271-276.

23. Cristóbal DRL, Maurtua TDJ. Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* spp. Rev Panam Salud Pública. 2003; 14:158-164.
24. Sharma MJ, Eastridge J, Mudd C. Effective household disinfection methods of kitchen sponges. Food Control. 2009; 20: 310-313.
25. Romero-Castillo PA, Leyva-Ruelas G, Cruz-Castillo JG, Santos-Moreno A. Evaluación de la calidad sanitaria de quesos crema tropical mexicano de la región de Tonalá, Chiapas. Rev. Mex. Ing. Quím. 2009; 8:111-119.
26. Kusumaningrum HD, Riboldi G, Hazeleger WC, Beumer RR. Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. Int J Food Microbiol. 2003; 85:227–236.
27. Vasek OM, Cabrera R, Coronel GJ, De Giori GS, Fusco AJV. Análisis de riesgos en la elaboración de queso artesanal de Corrientes (Argentina). FACENA. 2004; 20:13-22.
28. Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010. Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. Publicada en el Diario de la Federación el 27 de septiembre de 2010. México: DOF, 2010.
29. Castro-Castillo G, Martínez-Castañeda FM, Martínez-Campos AR, Espinoza-Ortega A. Caracterización de la microbiota nativa del queso Oaxaca tradicional en tres fases de elaboración. Rev Soc Ven Microbiol. 2013; 33:105-109.

30. Vázquez FC, Espinoza VE, Castelán OOA, Espinoza OA. Microbiological quality of artisan made Mexican Botanero cheese in the central highlands. *J Food Safety*. 2009; 30:40–50.
31. Hernández DN, Durán MT. Calidad sanitaria de los puntos iniciales de proceso de manufactura de queso. *Horizonte sanitario*. 2013; 12:58-62.
32. Castro-Georgana V, Díaz-Rodríguez AM, Torres-Torres B. Análisis de la calidad sanitaria de las queserías y los quesos en el Estado de Tabasco en el período del 2002-2005. *Salud en Tabasco*. 2007; 13:560-567.
33. Díaz-Cinco M, Acedo E, León DA. Survival of *Brucella abortus* in Mexican white soft cheese processing. *Recent Research Developments in Nutrition Research*. 1998; 2:47–57.
34. Torrez-Llañez MJ, Vallejo-Córdoba B, Díaz-Cinco ME, Mazorra-Manzano MA, González-Córdoba AF. Characterization of the natural microflora of artisanal Mexican Fresco cheese. *Food Control*. 2006; 17:683-690.
35. Cabrera RB, Basilica JC, Fusco AJ. Hongos en quesos artesanales de corrientes (Argentina). [Documento en internet]. 2000. [Consultado el 28 de enero de 2015]. Disponible en: <https://www.google.com.mx/#q=www.unne.edu.ar%2Funnevieja%2FWeb%2Fcyt%2Fcyt%2Fexactas%2Fe-021.pdf>
36. Greenwood MH, Roberts D, Burden P. The occurrence of *Listeria* species in milk and dairy products: A national survey in England and Wales. *Int J Food Microbiol*. 1991; 12:197–206.

37. Linnan MJ, Mascola L, Lou XD, Goulet V, May S, Salminen C. Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. *New Engl J Med.* 1988; 319:823–828.
38. Brito JRF, Santos EMP, Arcuri EF, Lange CC, Brito MAVP, Souza GN. Retail survey of Brazilian milk and Minas frescal cheese and a contaminated dairy plant to establish prevalence, relatedness, and sources of *Listeria monocytogenes* isolates. *Appl Environ Microbiol.* 2008; 74:4954–4961.
39. Demarigny Y, Beuvier E, Buchin S, Pochet S, Grappin R. Influence of raw milk microflora on the characteristics of Swiss-type cheeses. II. Biochemical and sensory characteristics. *Lait.* 1997; 77:151–167
40. Marino M, Maifreni M, Rondinini G. Microbiological characterization of artisanal Montaisa cheese: analysis of its indigenous lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Lett.* 2003; 229:133–140.

8.4 Artículo enviado a Indian Journal of Animal Sciences

8.4.1 Carta de recepción

- RV: [IJAnS] Submission Acknowledgement

De: Aruna T Kumar <icarjournal@gmail.com>
Enviado: martes, 8 de diciembre de 2015 05:13 p. m.
Para: Julieta Gertrudis Estrada Flores
Asunto: [IJAnS] Submission Acknowledgement

Julieta Gertrudis Estrada Flores:

Thank you for submitting the manuscript, "Microbial evolution during ripening of "Aged Cheese Zacazonapan" under environmental conditions over two production periods" to The Indian Journal of Animal Sciences. With the online journal management system that we are using, you will be able to track its progress through the editorial process by logging in to the journal web site:

Manuscript URL:
<http://epubs.icar.org.in/ejournal/index.php/IJAnS/author/submission/54159>
Username: julieta

Thank you for considering this journal as a venue for your work.

Aruna T Kumar
The Indian Journal of Animal Sciences

PS: No enquiry regarding status of the article would be entertained through telephone or email for twelve weeks. Authors are requested to track the manuscript online. Please also visit Notification section on the right sidebar of your login page for latest development regarding the article.

In case no response from Editor please forward E mail to cee@icar.org.in

The Indian Journal of Animal Sciences
<http://epubs.icar.org.in/ejournal/index.php/IJAnS>

8.4.2 Microbial evolution during ripening of "Aged Cheese Zacazonapan" under environmental conditions over two production periods.

Microbial evolution during ripening of "Aged Cheese Zacazonapan" under environmental conditions over two production periods.

J J Sánchez-Valdés¹, V Colín-Navarro², F López-González³, F Avilés-Nova⁴, O A Castelán-Ortega⁵ and J G Estrada-Flores ^{*6}.

¹ *Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales, Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto Literario No. 100, Colonia Centro. CP. 50000. Toluca, México.*

* Corresponding author: jgestradaf@uaemex.mx

ABSTRACT

Microbiota in cheeses from 12 Zacazonapan cheesemakers was studied during ripening in environmental conditions over two production periods (7 cheesemakers in the dry season and 5 in the rainy season). Cheese samples were obtained at 0, 30, 60, 120 and 150 days of ripening in order to evaluate Total Aerobic Mesophilic Bacteria, Total and Fecal Coliforms, *Staphylococcus* spp., Mold and Yeast, *Salmonella* spp, and *Listeria* spp. During ripening in the dry season, the cheese rind cracked causing the contamination of the interior and increasing the microbial load. By the end of the ripening process, the Mold and Yeast, Total Aerobic Mesophilic Bacteria, *Staphylococcus* spp., and Total and Fecal Coliform counts had reached 10.67, 7.84, 7.45, 7.77 and >3.04 ufc/g or mL respectively. When ripening is undertaken in the rainy season, the counts taken for the groups evaluated after 60 days of ripening decreased and, by the end of the ripening process, the Mold and Yeast, Total Aerobic Mesophilic Bacteria, *Staphylococcus* spp., and Total and Fecal Coliform counts had reached 9.53, 9.96, 8.14, 6.52 and 0.64 ufc/g or mL respectively. It is, therefore, considered that, under the conditions applied in this study, 150 days of ripening is not sufficient to decrease the counts for the unwanted groups, in order for the final product do not posing any risk to consumers.

Key-words: Environmental ripening, production period, microbiological evolution, cheeses, raw milk.

Traditional cheeses come from a complex system that gives rise to unique organoleptic characteristics strongly linked to their place of origin (Cardoso *et al.*, 2013).

Cheeses produced with raw milk can present groups of pathogenic microorganisms, whose presence or absence in cheese depends on the following: the quality of the milk and whether it has been thermally treated; the cheesemaker's general standard cleanliness; the quality of the cultures; the handling of the curd during the process; the storage temperature; and, the transportation and distribution of the cheese (Gay and Amgar, 2005).

In cheeses ripened under environmental conditions, temperature, relative environmental humidity, and time – depending on the variety of cheese – influence biochemical and microbiological changes differently (Di Cagno *et al.*, 2007).

Aged Cheese Zacazonapan (ACZ) is produced from the raw milk of cattle native to the Southern region of the State of Mexico by means of an artisanal process during the rainy season (July-November), when cattle feed by grazing on *Cynodon plectostachyus*, *Paspalum notatum* and *Brachiaria decumbens* (López-González *et al.*, 2015). It is consumed principally during the period of Lent after four months of ripening (Hernandez *et al.*, 2011). Ripening occurs in environmental conditions (non-controlled), in places where the temperature and relative humidity depend on the environment (Hernandez *et al.*, 2011).

There is little information that casts light on the final microbiological quality of ACZ, and it is not known whether the ripening time is sufficient, or in what time this cheese will be ready for consumption without posing any risk to the final consumer. As consumption of this product is principally based on consumer confidence in the producer, consumers do not have a superior guarantee as to its origin, composition or form of production.

The objective of this study was, therefore, to investigate the changes in the levels of the principal microbial groups during the ripening of the cheese under environmental conditions up to 150 days in two different seasons of production.

MATERIALS AND METHODS

Experimental site: This study was conducted in the municipality of Zacazonapan, which is found between 19° 00' 17" and 19° 16' 17" latitude north and between 100° 12' 55" and 100° 18' 13" longitude west, at an average height of 1470 m.a.s.l., with a mean annual temperature of 23°C and 1041.8 of rainfall per year.

Sampling cheese: This study was undertaken at the end of the cheese production season from November 2010 to May 2011 (dry season cheese) with seven ACZ producers, and at the start of the cheese production season, from September 2011 to February 2012 (rainy season cheese) with five of the seven previous producers. These were the producers who continued to produce this cheese for sale to the public and who had agreed to participate in the study.

In November 2010 and September 2011, before the start of cheese production, milk samples were taken at each production site, and, after production, two pieces

of approximately 2 kg of fresh cheese were taken. The cheeses were taken to a local cheesemaker and allowed to ripen for 150 days in the traditional way, without controlling the relative humidity or the temperature. From each piece of cheese, two samples were taken at intervals of 0, 30, 60, 120 and 150 days of ripening, with a cheese trier. Campeche wax was used to seal the holes left by the taking of the samples.

All milk and cheese samples were taken in accordance with the procedures from NOM 109 (DOF, 2010). The samples taken were placed in closed sterile containers and transported at 4°C for subsequent laboratory analysis.

Sample preparation: To determine Mold and Yeast, 10 g of cheese and 10 mL of milk from each sample obtained was homogenized in 90 mL of 0.1% peptone water, following the recommendations of NOM 110 (DOF, 2010) for the preparation of samples. Decimal dilutions were undertaken until a 10^{-7} dilution was obtained.

To determine Total Aerobic Mesophilic Bacteria, *Staphylococcus* spp., Coliforms, *Salmonella* spp., and *Listeria* spp., 25 g of cheese and 25 mL of milk from each sample was homogenized in 225 mL of 0.1% peptone water, in accordance with the recommendations from NOM 110 (DOF, 2010). Decimal dilutions were undertaken until a 10^{-7} dilution was obtained.

Microbiological analysis: Mold and Yeast was determined under NOM 111 (DOF, 2010), using potato dextrose agar plate count after incubation at 25°C for 48h. Total Aerobic Mesophilic Bacteria were determined in accordance with NOM 092 (DOF, 2010), using tryptone yeast extract agar with incubation at 35°C for 48h.

Total Coliforms were determined in accordance with NOM 113 (DOF, 2010) after incubation at 35°C for 24h using violet red bile agar plate.

Fecal Coliforms was determined using the most probable number technique in accordance with NOM 112 (DOF, 2010), using tryptose lauryl sulfate broth, after incubation at 35°C for 24h. *Staphylococcus* spp. was determined under NOM 115 (DOF, 2010), using Baird-Parker agar with the addition of egg yolk tellurite and incubation at 37°C for 48h after growth. Presumptive analysis for *Salmonella* spp. was conducted under NOM 114 (DOF, 2010) using Salmonella Shigella Agar incubated for 48h at 35°C, without carrying out confirmation of this genus. Presumptive analysis for *Listeria* spp. was conducted according to NOM 143 (DOF, 2010), with incubation at 35°C for 48h using Oxford agar, without undertaking either confirmation or isolation. Each sample was evaluated in duplicate.

Experimental design: A completely random experimental design was used to compare the ripening times (0, 30, 60, 120 and 150 days) for each period evaluated, as well as to compare the ripening between periods (dry and rainy). Data was analyzed by means of analysis of variance using the commands from the general linear model from the Minitab V.14 statistics software (Minitab, 2003). When significant differences were observed ($P < 0.05$), the Tukey test was applied. In order to undertake this analysis, the data was transformed into \log_{10} .

RESULTS AND DISCUSSION

Environmental conditions in the production region: Figure 1 shows the evolution of both temperature and precipitation in the region in which the cheese is

produced. The ripening of this cheese is undertaken in premises that do not have adequate control over either relative humidity or temperature, factors which depend on the climatic conditions in the region.

The foregoing means that the ripening of the cheese produced in the rainy season starts with relative humidity values of 70-80% and a temperature of 23°C. At the end of ripening process, a relative humidity of 50% or less and temperatures close to 20°C were observed.

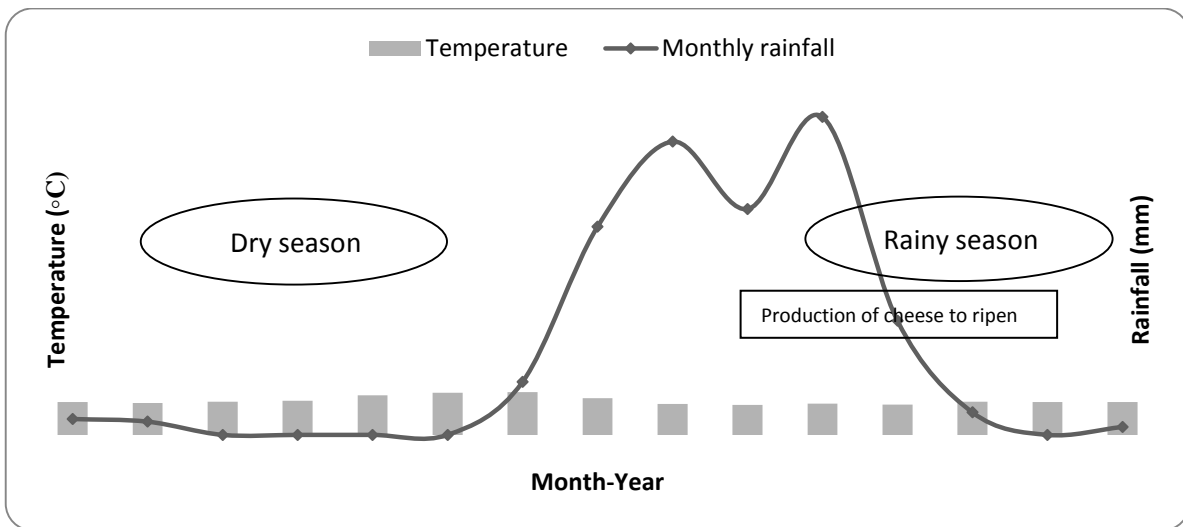


Figure 1. Temperature and monthly rainfall of the place in which Aged Cheese Zacazonapan is ripened.

Cheese ripening in the dry season starts with relative humidity of 60% and temperatures of 22°C and, by the end of the ripening process, relative humidity of 50% or less and average temperatures of 20°C are observed in the region.

During the ripening of the cheese in the dry season (Figure 1), environmental conditions (relative low humidity caused principally by the absence of rain) were observed to cause the cheese rind to dry and crack. This, together with the

production of gas by the Coliform Bacteria, led to the majority of the cheeses bursting, and, thus, the contamination of the interior, principally caused by mold (Table 1).

On the contrary, in the case of the ripe cheeses in the rainy season, the environmental conditions (relative high humidity) helped to keep the rind moist, which ensured that the cheeses did not burst, although swelling was found in the cheeses from this batch. By the end of ripening, when these cheeses were cut, holes and necrotic areas were found, a phenomenon known as late swelling (Su and Ingham, 2000).

Relative humidity, temperature and time play a significant role in the ripening of the cheeses (Di Cagno *et al.*, 2007). Controlling the temperature, for example, limits the development of pathogenic microorganisms such as *Salmonella* or *Staphylococcus*, which are classified as mesophilic organisms that have optimum growth under temperatures close to 37°C (Folkertsma *et al.*, 1996).

It was observed during the experiments that the texture of the two batches of cheese was different by the end of the ripening process, with cheese from the dry season harder than those from the rainy season. This latter cheese crumbles in the hand, while cheese from the dry season is firmer, requiring more work to be crumbled and even requiring the use of a cheese grater for support.

Milk quality: The initial quality of the milk with which the cheese is produced in the dry season is very poor, owing to the quantity of Mold and Yeast, Total Aerobic Mesophilic Bacteria and Total Coliforms (Table 1). Bad milking practices, the

absence of a cold chain and deficient transport conditions enable the contamination of raw materials (Volken *et al.*, 2003). During the rainy season, the initial milk quality is even worse, due to higher humidity and temperatures (Figure 1). On the other hand, milking conditions lead to greater contamination, with milking carried out in the open air on a floor of earth and manure, under constant rain, and with the cattle found in a permanently precarious state, meaning that there is no guarantee of a high quality final product. The use of milk of low microbiological quality is a common practice in the production of artisanal cheese made from raw milk (Volken *et al.*, 2003).

Table 1. Changes in the counts of the microbial groups of Aged Cheese Zacazonapan during ripening in dry and rainy season.

Season/ Microbial Group	Milk	Ripening time (days)					SEM
		0	30	60	120	150	
Dry							
Molds and Yeast ¹	6.83	9.22 ^{ba}	9.24 ^{ba}	9.59 ^{ba}	10.17 ^{ab}	10.67 ^{ab}	0.10
Total Mesophilic Aerobic Bacteria ¹	6.77	9.25 ^{ba}	9.93 ^{aA}	9.25 ^{ba}	7.98 ^{ca}	7.84 ^{ca}	0.14
<i>Staphylococcus</i> spp. ¹	UD	8.71 ^{ba}	9.93 ^{aA}	7.26 ^{da}	8.04 ^{ca}	7.45 ^{cdA}	0.18
Total Coliforms ¹	4.50	9.22 ^a	9.93 ^a	7.78 ^{ab}	6.13 ^{bc}	7.77 ^{ac}	0.32
Fecal Coliforms ²	UD	UD	>3.04 ^A	>3.04 ^A	>3.04 ^A	>3.04 ^A	0.00
Rainy							
Molds and Yeast ¹	7.23	9.29 ^{aA}	10.18 ^{bb}	9.68 ^{aA}	9.55 ^{aA}	9.53 ^{aA}	0.07
Total Mesophilic Aerobic Bacteria ¹	7.27	9.85 ^B	9.81 ^A	9.62 ^A	10.08 ^B	9.96 ^B	0.06
<i>Staphylococcus</i> spp. ¹	UD	9.63 ^{ab}	9.69 ^{aA}	9.16 ^{ab}	9.00 ^{acB}	8.14 ^{ba}	0.12
Total Coliforms ¹	5.30	9.81	9.74	6.57	7.45	6.52	0.62
Fecal Coliforms ²	UD	>3.04	>3.04 ^{aA}	>3.04 ^{aA}	1.36 ^{bb}	1.36 ^{bb}	0.22

¹cfu/g or mL (cfu, colony forming units). ²mpn/g (mpn, most probable number).

a-d: Within a row, different superscript lowercase letters denote significant differences ($P < 0.05$) amongst the ripening times for each studied period of storage.

A-B: Within a column, different superscript uppercase letters denote significant differences ($P < 0.05$) amongst the different seasons for each studied period of storage.

SEM: standard error of the mean, UD: undetermined.

Cheese is a fermented food that can reach a bacteria count greater than 9 cfu/g during the production process, a level necessary for the transformation of milk into cheese (Cristóbal and Maurtua, 2003). An increase in the microbial counts was observed from curdling up to the first 30 days (Table 1). The microbial counts then decreased over the length of the ripening process, owing to the biochemical and microbiological processes that occur in the interior of the cheese. These processes include a reduction in the water content that, as a consequence, leads to a concentration of solids, while the action of the lactic bacteria causes an increase in acidity and a decrease in pH, which leads to microbial competition for nutrients (De Dea *et al.*, 2008).

Mold and Yeast: In the case of molds and yeasts, significant differences ($P < 0.05$) were observed for cheeses ripened in the dry season (Table 1) due to early swelling caused contamination in the interior of the cheese, by taking samples much mold was observed. It is noted that during cheese ripening, increased microbial counts from 9.22 cfu/g in cheese of 0 days (fresh cheese) to 10.67 cfu/g in cheese of 150 days.

During the ripening of cheeses from the rainy season, Mold and Yeast increased from the point of manufacture up to 30 days, an increase which is normal during production and is due, in part, to the physical retention of microorganisms in the curd and microbial multiplication during milk curdling and whey drainage (Volken *et*

al., 2003). From day 60 onwards, a reduction in the microorganism recount was observed, given that, as the ripening process continues, the center of the cheese becomes even more compressed, which further reduces the oxygen available for the microbial populations to be able to reproduce. While high Mold and Yeast content are common during cheese ripening, yeast requires special attention given that some are able to synthesize proteolytic and lipolytic enzymes that, in the long-term, contribute to the development of taste and aroma during ripening (Volken *et al.*, 2003; Marino *et al.*, 2003).

Total Aerobic Mesophilic Bacteria: The group of Total Aerobic Mesophilic Bacteria (Table 1) presented significant differences ($P < 0.05$) over the course of the dry season. Comparing the seasons, it was observed that the microorganism counts were still higher in the rainy season ($P < 0.05$).

Cheeses ripened during the rainy season present higher microorganism counts over the entire ripening process. This is due to the unhygienic milking practices applied during this season, leading to milk of a low microbiological quality being used to produce the cheese. The microbiological load increased from 0 to 30 days of ripening, with Kosikowski (1977) suggesting that these microorganisms are tolerant acids, due to both the pH required for curdling in this type of cheese and the acidification process. The rennet used for the production of cheese also contributes to the microbial load. Is obtained from the young calves of the region, the cheesemaker washes and dries in the sun and preserves with salt. Before beginning cheese production, a piece of dry curd is taken and placed in a container

with warm milk for one or two hours, with this preparation then added to the milk in order to carry out the curdling.

By day 120, the Total Aerobic Mesophilic Bacteria decrease considerably, with the growth of these organisms during cheese ripening controlled by physicochemical factors, such as water activity, salt concentration, pH, organic acids, temperature during ripening, the potential for oxide reduction, and the presence of nitrates (Beresford *et al.*, 2001).

While cheeses ripened during the dry season show an increase in the counts from 0 to 30 days, the microbial population tends to decrease after this point. NOM 243 (DOF, 2010) does not specify aerobic mesophilic bacteria as a microorganism indicator of quality in cheeses, owing to the fact that this group includes the lactic bacteria that are desirable microorganisms during the ripening process (Romero-Castillo *et al.*, 2009).

Staphylococcus spp.: The *Staphylococcus* spp. presents differences ($P < 0.05$) between the two seasons (dry and rainy), where it was observed that the counts were lower at 60, 120 and 150 days for each batch of cheeses ripened in the dry season. The presence of *Staphylococcus* in cheese indicates that the contamination comes from the nose, mouth, and skin of those cheesemakers who have direct contact with the foodstuff and do not apply the minimum standards of hygiene, such as the use of gloves, masks, hats, gowns and aprons. Contamination can also be caused by the use of milk that has been exposed to mastitis, equipment and utensils, water, air, and dust, and also the type of curd

used (Cristobal and Maurtua, 2003; Marth and Steele, 1998). Found in the staphylococcus group, *Staphylococcus* spp. is organism tolerant to salt and capable of growing under a wide range of conditions: the low production of lactic acid enables its growth and the production of enterotoxins (Olerta *et al.*, 1999). When found at levels equal to or greater than 5.00 cfu/g, this microorganism can cause outbreaks of food poisoning, in which patients present diarrhea, vomiting, and stomach pains, and which can lead to death in children and the elderly (Maldonado and Llanca, 2008). Despite the above, Johnson *et al.* (1990) consider that pathogenic agents in cheeses are often classified as high, moderate and low risk, with *S. aureus* falling into the lowest risk category.

Total Coliforms: The Total Coliform content in the dry season was different ($P < 0.05$). It should be mentioned that throughout the ripening process, the counts decreased. Total Coliforms are a good indicator of the standard of hygiene, with their presence undesirable because they cause structural defects in the cheese (Sengul and Ertugay, 2006). They are caused by bad manufacturing practice, lack of personal hygiene, non-chlorinated water, and the failure to disinfect equipment or utensils (Dervisoglu and Oğuz, 2007).

Fecal Coliforms: The Fecal Coliform group presented significant differences during the rainy season ($P < 0.05$), with the levels decreasing 120 days after ripening. In this case, this decrease is due, among other aspects, to the action of Lactic Acid Bacteria (Amran and Abbas, 2011). Its presence is common in Mexican fresh cheeses (Diaz-Cinco *et al.*, 1998; Romero-Castillo *et al.*, 2009; Torres-Llañez *et al.*, 2006).

Salmonella spp.: While the analysis undertaken determined the possible presence of *Salmonella* in fresh cheese (Table 2), its possible presence was not detected after 30 days of ripening. *Salmonella* spp. has not been detected in Mexican fresh cheeses apart from tropical cream cheese from the state of Chiapas, Mexico. Its presence is associated with the preparation of products made with non-pasteurized milk (Diaz-Cinco *et al.*, 1998; Romero-Castillo *et al.*, 2009; Torres-Llañez *et al.*, 2006).

Table 2. Presumptive analyses for *Salmonella* spp. and *Listeria* spp. of Aged Cheese Zacazonapan during ripening in dry and rainy season.

Microbial Group	Season	Ripening time (days)				
		0	30	60	120	150
<i>Salmonella</i> spp.	Dry	+	-	-	-	-
	Rainy	+	-	-	-	-
<i>Listeria</i> spp.	Dry	+	+	+	+	+
	Rainy	+	+	+	+	+

+: Present in 25 g, -: Absent in 25 g

Listeria spp.: The analysis undertaken indicates the possible presence of bacteria from the *Listeria* genus across the entire ripening process, presenting a permanent risk to consumer health (Table 2). The presence of *Listeria* in cheese suggests that the contamination is caused by the preparation of cheese using milk contaminated by cows suffering from asymptomatic mastitis, bovine listeria or subclinical mastitis (Meyer-Broseta *et al.*, 2002). Although more specific studies to determine the species were not undertaken, the risk posed by listeria must be considered.

Despite the results obtained in this research, there is a global tendency towards the consumption of artisanal products, which are sought after for their flavor and quality, both linked to their place of origin. Marino *et al.* (2003), and Leroy and De Vuyst (2004) consider microbial diversity and interactions between populations as principal factors contributing to the flavor of traditional cheeses. This occurs in the production of aromatic and tastant substances as a result of microbial development, and in the texture of these cheeses through acidification and the production of exopolysaccharides.

In regions where these cheeses are produced and distributed, consumers look for the characteristics that make traditional cheeses unique, in the belief that cheeses made with pasteurized milk are insipid. A considerable amount of ACZ continues to be produced and there is a high demand in the local market, which could be yet more promising if the product on offer was safe and of a high quality. For this reason, it is necessary to make recommendations to improve the quality of the final product without affecting the sensorial properties or the texture.

By not controlling, principally, the temperature and the relative humidity, the ripening of the cheeses under environmental conditions leads to the development of the microbial groups studied here and ensures the absence of the conditions necessary to halt the development of microorganisms in the interior of the cheeses. The use of ripening chambers would be an option that cheese producers could follow in order to obtain more uniform products. As observed in Table 1, the cheeses ripened during the rainy season recorded lower counts, owing to the relative humidity.

It was concluded that there is a wide range of microbiota found in the cheese by the end of the process of ripening Zacazonapan cheese under environmental conditions for the two seasons of production, with high levels observed for Mold and Yeast, Total Aerobic Mesophilic Bacteria, *Staphylococcus* spp. and coliforms. Ripening for 150 days under environmental conditions is not sufficient for the inhibition of the development of pathogenic microorganisms in the cheese, with staphylococcus and coliforms highlighted specifically. There are deficiencies in the entire cheesemaking process: milking undertaken in unsuitable conditions; the absence of a cold chain; poor standards of general cleanliness on the part of the cheesemaker and their use of unhygienic utensils; the low quality of the water used in the process; and, the cheesemakers' deficient manufacturing practices. In light of the above, training is necessary for all actors involved in the cheese production process, from the dairy farmer up to the cheesemaker.

The possible presence of bacteria from the *Listeria* and *Salmonella* genera indicate an even greater health risk, and, although said species were not found to be present here, the undertaking of research into their definitive identification is recommended.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors express their gratitude to the cheesemakers of Zacazonapan and thankful to the Mexican Council for Science and Technology (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología – CONACYT) for the grant Jair Jesús Sánchez Valdés.

REFERENCES

- AMRAN, A.M. and ABBAS, A.A. 2011. Microbiological Changes and Determination of Some Chemical Characteristics for Local Yemeni Cheese. *Jordan J of Biol Sci.* 4, 93–100.
- BERESFORD, T.P., FITZSIMONS, N.A., BRENNAN, N.L. and COGAN, T.M. 2001. Recent advances in cheese microbiology. *Int Dairy J.* 11, 259-274.
- CARDOSO, V.M., DIAS, R.S., SOARES, B.M., CLEMENTINO, L.A., ARAÚJO, C.P. and ROSA, C.A. 2013. The influence of ripening period length and season on the microbiological parameters of a traditional Brazilian cheese. *Braz J Microbiol.* 44, 743-749.
- CRISTÓBAL, D.R.L. and MAURTUA, T.D.J. 2003. Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* spp. *Pan Am Health.* 14, 158-164.
- DE DEA L.J., BERNINI, V., DE LORENTIIS, A., PECORARI, A., NEVIANI, E. and GATTI, M. 2008. Parmigiano Reggiano cheese: evolution of cultivable and total lactic microflora and peptidase activities during manufacture and ripening. *Dairy Sci Technol.* 88, 511–523.
- DERVISOGLU, M. and AYDEMIR, O. 2007. Physicochemical and microbiological characteristics of Kulek cheese made from raw and heat-treated milk. *World J Microbiol Biotechnol.* 23, 451-460.
- DI CAGNO, R., BUCHIN, S., DE CANDIA, S., DE ANGELIS, M., FOX, P.F. and GOBBETTI, M. 2007. Characterization of Italian Cheeses Ripened Under Nonconventional Conditions. *J Dairy Sci.* 90, 2689-2704.

- DOF (DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN). 2010. Catálogo de Normas Oficiales Mexicanas. [On-line; consultado 18 Oct 2010]. Disponible en: <http://www.dof.gob.mx/normasOficiales.php>.
- DÍAZ-CINCO, M., ACEDO, E. and LEÓN, D.A. 1998. Survival of *Brucella abortus* in Mexican white soft cheese processing. Recent Research Developments in Nutrition Research.2, 47–57.
- FOLKERTSMA, B., FOX, P.F. and MCSWEENEY, P.L.H. 1996. Accelerated ripening of Cheddar cheese at elevated temperatures. Int Dairy J. 6, 1117–1134.
- GAY, M. and AMGAR, A. 2005. Factors moderating *Listeria monocytogenes* growth in raw milk and in soft cheese made from raw milk. Lait. 85, 153–170.
- GONZÁLEZ, I., SANDOVAL, H., SACRISTÁN, N., CASTRO, J., FRESNO, J. and TORBADIJO, M. 2007. Identification of acid bacteria isolate from Genestoso cheese throughout ripening and study of their antimicrobial activity. Food Control. 18,716-722.
- HERNÁNDEZ, M.C., HERNÁNDEZ, M.A., VILLEGAS DE GANTE, A.Z. y AGUIRRE, M.E. 2011. El proceso socio-técnico de producción de Queso Añejo de Zacazonapan, Estado de México. Rev. Méx. Cienc. Pecu. 2, 161-176.

- JOHNSON, E.A., NELSON, J.H. and JOHNSON, M. 1990. Microbiological safety of cheese made from heat-treated milk. II. Microbiology. J. Food Prot. 53, 519-540.
- KOSIKOWSKI, F. 1977. Cheese and fermented milk foods. Brooktondale, New York.
- LEROY, F. and DE VUYST, L. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. Trends Food Sci Technol. 15, 67-78.
- LÓPEZ-GONZÁLEZ, F., SÁNCHEZ-VALDÉS, J.J., CASTELÁN-ORTEGA, O.A., ALBARRÁN-PORTILLO, B. and ESTRADA-FLORES, J.G. 2015. Agronomic and nutritional characteristics of three grass species in the southern region of Mexico. Indian J of Animal Sci. 85, 271-274.
- MALDONADO, R. and LLANCA, L. 2008. Estudio de la calidad del queso de mano comercializado en el municipio Girardot, Estado Aragua, Venezuela. Rev. Científica FCV LUZ. 4, 431-436.
- MARINO, M., MAIFRENI, M. and RONDININI, G. 2003. Microbiological characterization of artisanal Montaisa cheese: analysis of its indigenous lactic acid bacteria. FEMS Microbiol Lett. 229, 133-140.
- MARTH, E. and STEELE, J. 1998. Applied dairy microbiology. Ed. Marce Dekker, INC. Wisconsin, USA. 516 p.
- MEYER-BROSETA, S., DIOT, A., BASTIAN, S., RIVIÈRE, J. and CERF, O. 2002. Estimation of low bacteria concentration: *Listeria monocytogenes* in raw milk. Int J Food Microbiol. 80, 1-15.

- MINITAB V.14. 2003. Statistical software. User's guide II: Data analysis and quality tools, graphics, and macros. USA.
- OLERTA, C.S., SANZ, E., GONZALEZ, F. and TORRE, P. 1999. Microbiological and physicochemical characteristics of Cameros cheese. Food Microbiol. 16, 615-621.
- ROMERO-CASTILLO, P.A., LEYVA-RUELAS, G., CRUZ-CASTILLO, J.G. y SANTOS-MORENO, A. 2009. Evaluación de la calidad sanitaria de quesos crema tropical Mexicano de la región de Tonalá, Chiapas. Revista Mexicana de Ingeniería Química. 8, 111-119.
- SENGUL, M. and ERTUGAY, M.F. 2006. Microbiological and chemical properties of cheese Helva produced in Turkey. Int J of Food Prop. 9, 185-193.
- SU, Y.C. and INGHAM, S. 2000. Influence of milk centrifugation, brining and ripening conditions in preventing gas formation by *Clostridium* spp. in Gouda cheese. Int J Food Microbiol. 54, 147-154.
- TORREZ-LLAÑEZ, M.J., VALLEJO-CÓRDOBA, B., DÍAZ-CINCO, M.E., MAZORRA-MANZANO, M.A. and GONZÁLEZ-CÓRDOBA, A.F. 2006. Characterization of the natural microflora of artisanal Mexican Fresco cheese. Food Control. 17, 683-690.
- VOLKEN S.C.F., DALLA, R.T. and ZACHIA, A.A. 2003. Changes in the microbiological and physicochemical characteristics of Serrano cheese during manufacture and ripening. Braz J Microbiol. 34, 260-266.

8.5 Evolución fisicoquímica durante la maduración del queso añejo de Zacazonapan bajo condiciones ambientales, en dos épocas de producción.

Evolución fisicoquímica durante la maduración del queso añejo de Zacazonapan bajo condiciones ambientales, en dos épocas de producción.

Sánchez, V. J. J., Colín N. V., López G. F, Avilés N. F., Castelán O. O. A. y Estrada F. J. G.

*Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM). Instituto Literario No. 100, Colonia Centro. CP. 50000. Toluca, México.

**Centro Universitario UAEM Temascaltepec, Estado de México, México.

***Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UAEM.

E-mail: jgestradaf@uaemex.mx

Resumen

Se evaluó la evolución fisicoquímica en 12 queserías durante la maduración ambiental en dos épocas de producción (7 queserías en la época de secas y 5 en la época de lluvias). Se obtuvieron muestras a los 0, 30, 60, 120 y 150 días de maduración en cada caso para evaluar humedad (%), Cenizas (g/kg), Grasa (g/kg), Proteína (g/kg) NaCl (g/kg), Acidez (°D) y pH. Durante la maduración se observa pérdida de humedad en ambos casos, lo que implica que durante la

maduración se incrementa la concentración de sólidos afectando el contenido de cenizas, grasa, proteína NaCl. La acidez y pH se incrementan debido a las reacciones bioquímicas que se llevan a cabo al interior del queso. El llevar a cabo la maduración del queso sin controlar factores como humedad relativa y temperatura (característica propia de este queso) le proporciona atributos que lo hacen diferente de otros quesos pero con calidad fisicoquímica similar a los producidos en otras partes de México y el mundo.

Palabras clave: Queso añejo, Maduración, Fisicoquímicos, Leche cruda.

Introducción.

El queso se valora como un excelente alimento a causa de su alto valor nutritivo (en particular debido a sus cantidades relativamente altas de proteína, calcio, fósforo y vitaminas como A y D), alta biodisponibilidad y palatabilidad.

Debido a su composición química y alta asimilación, la leche y los productos lácteos de calidad son significativos como una fuente accesible de proteína de origen animal en la dieta humana (Shahab *et al.*, 2012).

Se producen cerca de 900 variedades de quesos en todo el mundo, que se clasifican de acuerdo a su forma, fabricación, composición química y maduración (Pandey *et al.*, 2003).

El queso añejo de Zacazonapan (QAZ), es un queso que se elabora a partir de leche cruda de vaca proveniente de ganado bovino criollo de la región, es muy reconocido en la región sur del Estado de México. La producción de este queso se

remonta a inicios del siglo XV después de la conquista de México, su elaboración es artesanal, se procesa en época de lluvias (julio-noviembre) cuando la alimentación del ganado se basa en el pastoreo y se consume principalmente en la época de la cuaresma después de 3 a 4 meses de maduración, la cual se lleva a cabo bajo las condiciones climáticas propias de la región, es decir, a temperatura ambiente; misma que va desde los 15 hasta los 35 °C y humedad relativa que va del 60 a 80 % en la época de elaboración y de 30 a 35 % previo al consumo. Todos estos factores le proporcionan atributos propios que lo hacen diferir de la amplia variedad de quesos que se producen en México.

La maduración de quesos es un proceso en el cual ocurren numerosas reacciones principalmente bioquímicas sobre las proteínas, la materia grasa y la lactosa, responsables de importantes cambios en la textura y en las características sensoriales, que conducen a determinar la tipicidad de cada producto (Fox *et al.*, 1993). La proteólisis es probablemente el más importante acontecimiento bioquímico, que tiene un gran impacto en el sabor y la textura de la mayoría de las variedades de queso. Las vías bioquímicas a través de las cuales la lactosa, lactato, grasa de leche y la caseína se convierten en sabor son conocidas en términos generales, aunque aún queda mucho por descubrir, principalmente las reacciones secundarias como el catabolismo de los aminoácidos y las interacciones entre los productos de diferentes reacciones secundarias (McSweeney, 2004).

Algunos autores coinciden en que el proceso de lipólisis es el más importante debido a que la degradación de la materia grasa es de gran importancia en la

formación de aromas y sabores debido a la producción de ácidos grasos libres (Collins *et al.*, 2003; McSweeney and Sousa, 2000).

El nivel de la proteólisis y lipólisis está influenciada por varios factores, entre ellos el pH, la sal, el contenido de humedad de la cuajada, la temperatura y tiempo de maduración (Shahab *et al.*, 2012).

Marino *et al.* (2003) consideran que cuando los quesos se producen siguiendo los procedimientos tradicionales de la leche cruda, la microflora del ambiente juega un papel fundamental en la fermentación y es uno de los parámetros más importantes que afectan la calidad del queso. Además, la diversidad biológica de las bacterias implicadas en la producción de queso puede ser considerado un factor fundamental para el mantenimiento de las características típicas de los quesos tradicionales. Recientes investigaciones han demostrado que la microflora indígena de leche cruda influye en las características bioquímicas y de sabor de los quesos (Marino *et al.*, 2003).

Existe poca información que dé cuenta de la calidad fisicoquímica del queso añejo de Zacazonapan. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar la evolución fisicoquímica del queso añejo de Zacazonapan durante la maduración ambiental en dos épocas de producción.

Materiales y método

Localización del experimento

El presente estudio se llevó a cabo en el municipio de Zacazonapan, que se encuentra a 1,470 metros sobre el nivel del mar. Según la clasificación de Köppen, modificada por García (1981), el clima es cálido A (w), están presentes dos subtipos de acuerdo al grado de humedad: el AW0 (w) (i') g, el más seco de los cálidos; y el AW1 (w) (i') g, con humedad moderada, ambos con un porcentaje de lluvia invernal inferior a 5%. La temperatura media anual es de 23° C, la máxima de 31°C y la mínima de 15°C. La precipitación total es de 1041.8 milímetros, con vientos en mayo y esporádicamente en agosto y septiembre.

Toma y manejo de muestras

En noviembre de 2010 y septiembre de 2011 antes de comenzar con la elaboración del queso se tomaron muestras de leche de cada sitio de producción y al término de la producción se adquirieron dos piezas de queso fresco de aproximadamente 2 kg, los quesos se llevaron a una quesería de la zona y se dejaron madurar por 150 días de la forma tradicional, es decir, sin controlar la humedad relativa y la temperatura.

De cada pieza de queso, se tomaron dos muestras en los siguientes tiempos: 0, 30, 60, 120 y 150 días de maduración mismas que se obtuvieron con un sacabocados. Una vez tomada la muestra, se utilizó cera de Campeche para sellar los huecos del lugar donde se tomó la muestra.

Todas las muestras de leche y queso se tomaron siguiendo los procedimientos de la NOM 109 (Secretaría de Salud, 1994). Las muestras obtenidas fueron

colocadas en contenedores estériles cerrados y transportadas a 4°C para su posterior análisis en laboratorio.

Análisis fisicoquímico

Siguiendo los métodos de la AOAC (2005), se determinó el contenido de humedad (método 926,08), el contenido de grasa con el método Soxhlet por extracción con éter (método 960,39), la proteína por el método Kjeldhal (método 920,123) donde el contenido de nitrógeno se multiplicó por 6,38 para convertirlo a proteína cruda. Las cenizas por incineración de la muestra en una mufla a 550°C por 4 horas (método 935,42), se usó un potenciómetro Orion 520 A para medir pH, el contenido de sal (NaCl) se determinó por el método de Volhard (método 935,43). Todos los análisis se realizaron por duplicado.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar para determinar diferencias entre productores y comparar los tiempos de maduración (0, 30, 60, 120 y 150 días) de cada época evaluada. Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza utilizando el comando del modelo general lineal del software estadístico Minitab V.14 (2003). Cuando se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) se aplicó la prueba de Tukey.

Resultados y discusión

La Figura 1 muestra la evolución de la temperatura y la precipitación en la región donde el queso es producido, la maduración de este queso se lleva a cabo en

locales en los que no se tiene control adecuado de la humedad relativa ni de la temperatura, factores que dependen de las condiciones climáticas de la zona. La precipitación está muy marcada, la época de lluvias comienza en junio y termina en noviembre y la época de secas inicia en diciembre y termina en mayo.

Esto implica que el queso madurado en la época de lluvias, la maduración inicia con valores de humedades relativas de 70-80% y 23°C de temperatura; al finalizar la maduración, se observaron humedades relativas de 50% o menos y temperaturas cercanas a los 20°C.

En el queso madurado en la época de secas, la maduración inicia con humedades relativas de 60% y temperaturas de 22°C y al final de la maduración se observan en la zona humedades relativas de 50% o menos y temperaturas promedio de 20°C.

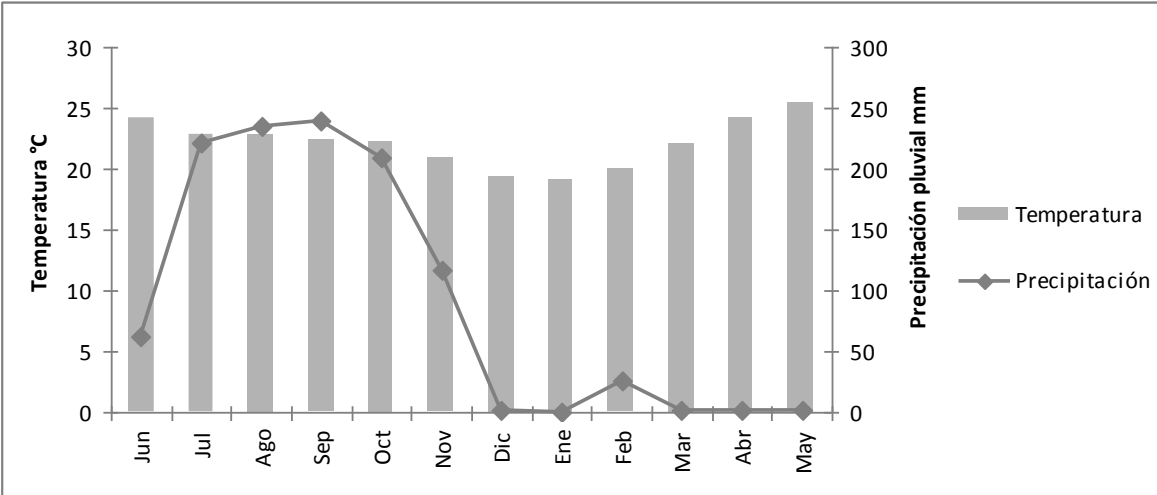


Figura 1. Temperaturas y precipitaciones en la zona de producción del queso añejo de Zacazonapan en el 2010 (CONAGUA).

Los cambios fisicoquímicos ocurridos durante la maduración del queso de secas se muestran en la Tabla 1. Se observan diferencias significativas entre productores en el contenido de cenizas, grasa, acidez y pH, situaciones normales en quesos artesanales pues cada productor recurre al saber hacer, las diferencias en la cantidad de grasa y cenizas entre productores se explican debido a que dos productores de quesos descremaban la leche. Las diferencias en la acidez y pH se deben al tiempo que tardan en iniciar el proceso de elaboración del queso, algunos lo inician después de 2 horas después de la ordeña y algunos hasta 6 horas, algunos productores utilizan la leche de la ordeña de la tarde del día anterior, por lo que se hace necesario realizar capacitaciones para enseñarles a mejorar y estandarizar sin alterar sus procesos de elaboración.

Tabla 1: Evolución de los parámetros fisicoquímicos durante la maduración no controlada del queso Zacazonapan elaborado al final de la época de producción de queso (época de secas)

Queso	Humedad (%)	Cenizas (g/kg)	Grasa (g/kg)	Proteína (g/kg)	NaCl (g/kg)	Acidez (°d)	Potencial hidrogeno (pH)
Productor							
I	29.33	57.7 ^a	215.9 ^a	323.7	53.4	2.29 ^a	6.22 ^a
II	28.91	69.3 ^a	227.7 ^a	296.7	54.7	2.53 ^a	5.45 ^{bc}
III	30.63	44.5 ^{ab}	243.9 ^a	292.5	54.5	2.98 ^a	5.09 ^{bc}
IV	25.90	60.3 ^a	268.5 ^a	284.3	54.2	2.73 ^a	5.44 ^{bc}
V	34.47	62.2 ^a	232.3 ^a	306.8	54.7	3.28 ^a	5.49 ^{bc}
VI	28.29	62.6 ^a	186.4 ^{ac}	280.9	54.2	2.68 ^a	5.88 ^{ac}
VII	30.79	66.6 ^{ac}	159.0 ^{bc}	284.4	53.7	1.96 ^{ab}	5.59 ^{ac}

Valor de P	0.093	0.016	0.000	0.588	0.859	0.044	0.000
SEM	1.41	0.263	0.792	0.951	0.032	0.181	0.075
Días de maduración							
0	41.09 ^a	42.1 ^a	183.8 ^a	223.4 ^a	54.0 ^a	1.52 ^a	5.39
30	30.46 ^b	58.9 ^b	236.9 ^{bc}	286.6 ^b	53.3 ^a	2.57 ^a	5.72
60	29.22 ^b	67.0 ^b	208.3 ^{ac}	327.7 ^b	54.8 ^a	2.46 ^a	5.77
120	21.25 ^{bc}	68.4 ^b	232.7 ^b	345.4 ^{bc}	53.1 ^a	2.87 ^a	5.68
150	25.83 ^b	66.8 ^b	238.6 ^b	289.0 ^{bc}	56.5 ^{ab}	4.28 ^b	5.23
Valor de P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.013	0.000	0.017
EEM	1.41	0.263	0.792	0.951	0.032	0.181	0.075

Letras diferentes en columnas presentan diferencias significativas, EEM: error estándar de la media.

La evolución de los parámetros fisicoquímicos del queso de lluvias se muestran en la Tabla 2, se observa que existen diferencias significativas ($P < 0.05$) para el contenido de humedad entre productores del lote de queso madurado en la época de lluvias, estas diferencias se deben a la forma de elaborar el queso, aunque el proceso es el mismo, algunas acciones se realizan en diferentes maneras, para extraer la mayor parte de suero, algunos colocan pesas en la cuajada y se corta de dos a tres veces.

Tabla 2: Evolución de los parámetros fisicoquímicos durante la maduración no controlada del queso añejo de Zacazonapan elaborado en los primeros días de la época de producción de queso (época de lluvias)

Queso	Humedad (%)	Cenizas (g/kg)	Grasa (g/kg)	Proteína (g/kg)	NaCl (g/kg)	Acidez (°D)	Potencial hidrogeno (pH)
Productor							
I	33,55 ^a	61,7	195,0	302,1 ^a	55,4	3,23	5,56 ^a
II	37,46 ^{ab}	50,2	202,4	246,5 ^b	55,6	2,18	5,32 ^a
III	36,93 ^{ac}	60,5	220,3	284,5 ^a	55,1	2,92	5,49 ^a

IV	32,81 ^a	60,4	175,4	300,2 ^a	55,6	2,34	5,34 ^a
V	40,06 ^{bc}	64,4	211,9	309,7 ^a	56,2	2,86	5,88 ^{ab}
Valor de P	0,004	0,179	0,369	0,000	0,661	0,062	0,006
SEM	1.14	2.69	10.0	9.12	0.28	0.25	0.06
Días de maduración							
0	41,02 ^a	40,4 ^a	144,4 ^a	241,6 ^a	54,0 ^a	1,53 ^a	5,10 ^a
30	36,04 ^a	67,3 ^b	238,6 ^{bc}	287,6 ^{bc}	55,7 ^{ac}	2,18 ^a	5,58 ^b
60	37,92 ^a	65,2 ^b	238,6 ^{bc}	289,8 ^{bc}	55,6 ^{ac}	2,55 ^a	5,56 ^b
120	37,80 ^a	65,0 ^b	175,8 ^{ac}	273,0 ^{ac}	55,8 ^{ac}	2,53 ^a	5,62 ^b
150	28,03 ^b	59,4 ^b	207,6 ^{ac}	351,0 ^{bd}	56,8 ^{bc}	4,74 ^b	5,72 ^b
Valor de P	0.000	0.001	0.003	0.000	0.024	0.000	0.003
EEM	1.14	2.69	10.0	9.12	0.28	0.25	0.06

Letras diferentes en columnas presentan diferencias significativas, EEM: error estándar de la media.

Diferencias significativas ($P < 0.05$) se observan en el proceso de maduración del queso en ambos lotes (Tablas 1 y 2), la pérdida de humedad en el queso es mayor en el madurado en la época de secas, comienza con una humedad de 41% y al final tiene 25.83%, en la Figura 1 se observa que en el lugar donde el queso es madurado, se tienen temperaturas que van de los 20 a los 25°C y al tener una ausencia de lluvias (a excepción del mes de febrero debido a que este fue un año atípico) se cuenta con humedades relativas muy bajas en el cuarto de maduración (datos no reportados), estas lluvias atípicas ocasionaron el incremento de humedad al final de la maduración. El queso de lluvias comienza con 41% y termina con 28%, debido al incremento de la humedad relativa causada por las lluvias y una temperatura más constante. En el caso de quesos madurados bajo condiciones controladas la pérdida de humedad es menor, el queso Castelmagno

PDO inicia con una humedad de 45.5% y a los 150 días de maduración termina con una humedad de 33.5%, se madura en cuevas con una temperatura de 10 a 12°C y 85-90% de humedad relativa (Bertolino *et al.*, 2011).

El contenido mineral (cenizas) en ambos lotes de queso presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$), se observa que durante la maduración de los quesos el contenido mineral se incrementó de 42.1 a 66.8g/kg en el queso de secas y de 40.4 a 59.4g/kg en el madurado en la época de lluvias. Fresno *et al.* (1996) indican que en todas las etapas de la producción de queso se tienen cambios en el contenido de agua y sustancias hidrosolubles incluyendo minerales, mismos que se pierden principalmente en el lactosuero. Peláez *et al.* (2004) señalan que durante la maduración hay un incremento en la concentración de minerales y elementos traza.

La evolución del contenido graso presentó diferencias significativas ($P < 0.05$) en ambos lotes de queso. El queso madurado en la época de secas (Tabla 1), la grasa inicia con 183 g/kg, se incrementa a 236.9, 208.3, 232.7 y 238.6 a los 30, 60, 120 y 150 días, este incremento se debe a la concentración de sólidos debido a la pérdida de humedad. En el caso del queso madurado en la época de lluvias (Tabla 2) el comportamiento de la cantidad de grasa comienza en 144.4 g/kg, 238.6, 238.6, 175.8 y 207.6 a los 0, 30, 60, 120 y 150 días, se observa que en los primeros 30 días hay una pérdida considerable de humedad, en el resto de la maduración las condiciones climatológicas ocasionan que el queso se humedezca y que se observen las variaciones correspondientes. El contenido de grasa es

menor al queso Castelmagno PDO (Bertolino *et al.*, 2011), pero está dentro de lo reportado por Hernández-Morales *et al.* (2010).

Las diferencias en el contenido de proteína ($P < 0.05$) entre productores es por la calidad de la leche, debido a que el ganado alimentado al iniciar la época de lluvias utiliza forraje joven con mejor calidad nutritiva y el forraje utilizado al final de la época de lluvias es forraje de menor calidad, se sabe que existen diversos factores que afectan la composición de la leche, incluido el clima, estado nutricional y fisiológico del hato, etapa de lactancia (Tavaria *et al.*, 2003).

Se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) durante la maduración en ambos lotes de queso. El queso madurado en la época de secas inicia con 223.4 g/kg, se incrementa durante la maduración hasta 289 g/kg a los 150 días. El queso de lluvias inicia con 241.6g/kg de queso y finaliza con 351 g/kg de proteína, este incremento en ambos casos se debe a la concentración de sólidos causada por la pérdida de humedad del queso. La fracción de nitrógeno soluble en agua es muy heterogéneo en términos de composición, e incluye proteínas del lactosuero, y péptidos de alto, medio y bajo peso molecular, como así como de aminoácidos libres. El conjunto de reacciones normalmente es el resultado de la proteólisis secundaria de la acción de cuajo residual y proteasas propias de la leche, junto con la microflora adicionada (Tavaria *et al.*, 2003). En queso Castelmagno el contenido de proteína se incrementa de 20.0% hasta 26.7% a los 150 días de maduración.

El contenido de sal (NaCl) en ambos lotes presentó diferencias significativas ($P < 0.05$), inicia con 54 g/kg de queso y termina con 56.8 g/kg en el queso madurado en la época de secas y en el queso madurado en la época de lluvias el contenido de sal va de los 54 a los 56.5 g/kg de queso, los contenidos de sal no varían mucho debido a que el salado del queso se realiza añadiendo la sal sólida en grano (la cantidad de sal añadida se realiza de acuerdo a la experiencia del quesero) a la cuajada una vez que ésta ya se cortó al menos dos o tres veces para retirar el exceso de suero de la misma, los cambios observados durante la maduración se deben a que el queso absorbe humedad o la pierde de acuerdo a las condiciones climáticas de la zona de producción del mismo.

La acidez presentó diferencias significativas ($P < 0.05$) para el queso elaborado en la época de secas entre productores. Se presentaron también diferencias significativas ($P < 0.05$) para el tiempo de maduración (lluvias y secas). En el Cuadro 1 se observa que durante la maduración del queso en la época de secas, la acidez comienza en 1.52 y finaliza en 4.28. En el Cuadro 2, durante la maduración del queso en la época de lluvias, la acidez comienza en 1.53 y finaliza en 4.74. Resultados similares reportaron Tarakci y KucuKoner (2006) en el queso Kashar de Turquía, Shahab *et al.* (2012) relacionan el incremento de la acidez durante la maduración a la fermentación de la lactosa y la liberación de aminoácidos y ácidos grasos libres (productos de la proteólisis y lipólisis).

El nivel de acidez del queso es de gran importancia, influye en el crecimiento de los microorganismos y en la actividad enzimática durante el proceso de

maduración, afectando con ello las propiedades reológicas y el sabor (Watkinson *et al.*, 2001).

El potencial hidrogeno (pH) presentó diferencias significativas en ambos lotes de queso ($P < 0.05$), tanto para productores como para tiempo de maduración. En el queso de la época de secas, al final de la producción de queso el pH es de 5.39, a los 30 y 60 días el pH se acerca a la neutralidad (5.72 y 5.77) y a partir del día 120 vuelve a disminuir (5.68) para terminar con un pH de 5.23 a los 150 días. En el queso de lluvias al iniciar la maduración el pH es de 5.1 y durante la maduración el pH se acerca a la neutralidad (5.72) a los 150 días. Se observan pH más ácidos que en el queso Parmesano Regiano, el pH presentado durante la maduración va de 5.75, 5.35, 5.36, 5.36 y 5.33 a los 0, 30, 60, 120 y 180 días (De Dea *et al.*, 2008). En el queso Castelmagno PDO, el pH observado es más ácidos que los del queso añejo de Zacazonapan y van de 4.71 en queso fresco hasta 4.99 en queso con 150 días de maduración (Bertolino *et al.*, 2011). Dolci *et al.* (2010) consideran que la evolución del pH se debe a la evolución del ecosistema microbiano.

Conclusiones

Llevar a cabo la maduración del queso añejo de Zacazonapan en condiciones ambientales (característica propia de este queso), le proporciona atributos propios que lo hacen diferente de otros quesos producidos de manera similar. La calidad fisicoquímica del queso añejo de Zacazonapan, es similar a la de quesos producidos en otras partes de México y el mundo,

Bibliografía.

Association of Official Analytical Chemists International (AOAC) (2005). Official Methods of Analysis, 18th ed. Washington, D. C.

Bertolino M., Dolci P., Giordano M., Rolle L., Zeppa G. (2011). Evolution of chemico-physical characteristics during manufacture and ripening of Castelmagno PDO cheese in wintertime. *Food Chemistry*. 129:1001-1011.

Collins, Y., McSweeney P. L. H., and Wilkinson M. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: A review of current knowledge. *Int. Dairy J.* 13:841–846.

De Dea L. J., Bernini V., De Lorentis A., Pecorari A., Neviani E., Gatti M. (2008). Parmigiano Reggiano cheese: evolution of cultivable and total lactic microflora and peptidase activities during manufacture and ripening. *Dairy Science and Technology*. 88:511-523.

Dolci P., Alessandria V., Rantsiou K., Bertolino M., Cocolin L. (2010). Microbial diversity, dynamics and activity throughout manufacturing and ripening of Castelmagno PDO cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 143:71-75.

Fox P. F. Law J, McSweeney P. Wallace J. (1993). Biochemistry of cheese ripening. En P. F. Fox (Ed.). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Vol. 1 (pag. 389). General Aspects. Chapman & Hall, London.

Fresno J. M., Tornadijo M. E., Carballo J., Gonzalez Prieto J., Bernardo A. (1996). Characterization and biochemical changes during the ripening of a Spanish craft goat's milk cheese (Armada variety). *Food chem.*, 55:225-230.

García E. (1981). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen, adaptado para las condiciones de la República Mexicana. 3ª Ed. Offset., Lario Ed. S.A. 252 pag.

Hernández-Morales C., Hernández-Montes A., Aguirre-Mandujano E. and Villegas de Gante A. (2010). Physicochemical, microbiological, textural and sensory characterisation of Mexican Añejo cheese. *International Journal of Dairy Technology*. 63:552-560.

Marino, M., Maifreni, M. and Rondinini, G. (2003). Microbiological characterization of artisanal Montaisa cheese: analysis of its indigenous lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters* 229, 133–140.

McSweeney P. L. H. (2004) Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology* 2/3 127–144.

McSweeney P. L. H. and Sousa M. J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Lait* 80:293-324

Minitab (2003). Statistical software v14. User's guide II: Data analysis and quality tools, graphics, and Macros. USA.

Pandey P. K, Ramaswamy H. S. and St-Gelais D. (2003) Evaluation of pH change kinetics during various stages of Cheddar cheese-making from raw, pasteurized, micro-filtered and high-pressure-treated milk. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie* 36 497–506.

Peláez P., Fresno M., Rodriguez E., Darías J., Díaz C. (2004). Chemometric studies of fresh and semi-hard goat's cheeses produced in Tenerife (Canary Islands). *Food Chem.*, 88:361-366.

Secretaria de Salud. (1994). NOM-109-SSA1. Bienes y servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. México.

Shahab L. A. R., Ehsani M. R., Mirdamadi S. and Ebrahim Z. M. M. A. (2012). Changes in physicochemical and organoleptic properties of traditional Iranian cheese Lighvan during ripening. *International Journal of Dairy Technology* Vol 65, No 1 February 2012 64-70

Tarakci Z. and Kucukoner E. (2006) Changes in physicochemical, lipolysis and proteolysis of vacuum-packed Turkish Kashar cheese during ripening. *Journal of Central European Agriculture* 7:459–469.

Tavaria F. K., Franco I., Carballo F. J., Malacata F. X. (2003). Amino acid and soluble nitrogen evolution throughout ripening of Serra da Estrela cheese. *International Dairy Journal.* 13; 537-545.

Watkinson P, Coker C, Crawford R, Dodds C, Johnston K, Mckenna A and White N. (2001). Effect of cheese pH and ripening time on model cheese textural properties and proteolysis. *International Dairy Journal.* 11:455-464.

IX. DISCUSIÓN GENERAL

El queso añejo se produce en varios lugares del sur del estado de México, destacan los municipios de Amatepec, Temascaltepec, Tlatlaya y algunas localidades del estado de Guerrero colindantes con el estado de México. Sin embargo, la mayor producción se centra en el municipio de Zacazonapan. La ganadería es la principal actividad económica, a ésta actividad se destina el 60% de la superficie (Hernández *et al.*, 2011).

En el municipio de Zacazonapan se localizaron 23 productores de queso, de los cuales solo siete elaboran queso añejo para venta al público en la época de cuaresma, el resto solo elabora eventualmente queso añejo de Zacazonapan para consumo propio o para participar en un evento anual denominado “La Feria del Queso” donde se premia al mejor producto.

El proceso de elaboración presenta algunas variaciones entre productores, variaciones que se deben a la falta de estandarización de procesos (Palacio *et al.*, 2002; García 2005), cada uno recurre al saber – hacer (Ramírez, 2010), pues es así como le enseñaron a hacerlo. Durante la elaboración se realizan acciones propias de este queso (doble o triple molido a mano, Salado con sal de “Araró”).

La maduración depende de los factores climáticos y se lleva a cabo en percheras que cuelgan en el mismo lugar donde se elabora el queso, este proceso tarda al menos 4 meses; aunque los queseros refirieron la existencia de piezas maduras de hasta un año.

Villegas (2012) considera que los quesos mexicanos genuinos deben prepararse a partir de leche fluida de vaca o cabra y que en su elaboración se deben incorporar únicamente los insumos que tradicionalmente se han usado, siempre y cuando sean permitidos por la normatividad vigente; destaca además que los quesos genuinos deberán tener una tradición de al menos cuatro décadas y producirse en territorio mexicano. De acuerdo a lo observado en el proceso de elaboración del queso añejo de Zacazonapan, podemos considerarlo como un queso genuino al utilizar leche cruda, cuajo natural, sal artesanal y el doble o triple molido; acciones que solo se realizan en este queso.

En la elaboración del queso, se utiliza agua de manantial que se lleva a las queserías a través de poliductos pero sin recibir tratamiento de potabilización, en las queserías se almacena en pilas de cemento que están ubicadas afuera del lugar donde el queso es elaborado, los utensilios se lavan con esta agua y es la misma que usan para lavar la ropa. La NOM 251 (DOF 2010) señala que el agua que esté en contacto directo con alimentos, materias primas, superficies, debe ser potable, por lo que se recomienda utilizar cloro para solucionar esta situación.

Al momento de realizar las visitas a las queserías se observó que las queseras no realizan correctamente el lavado o desinfectado de manos y lo hacen con el agua de la pila, no utilizan tampoco alcohol o algún desinfectante antes de comenzar a trabajar en la elaboración del queso. Al ser una actividad complementaria, las queseras realizan a la par de la elaboración del queso las labores propias del hogar, es decir lavan ropa, preparan los alimentos para la familia, realizan la

limpieza de la casa. Sin embargo, solo una quesera si desinfectaba el agua y sus manos antes de comenzar la elaboración del queso.

Durante la visita a las queserías se observó que no todas las queseras utilizan los mismos utensilios durante el proceso de elaboración del queso. Destaca el material con el que están elaborados los utensilios, por ejemplo, las charolas/tinas, cubeta/bote, cucharas, coladores y el aro para queso son de plástico común (no de grado alimenticio); el cuchillo es de acero, se tienen utensilios de madera como la mesa de trabajo y el molde rectangular, el jarro es de barro y el chiquihuite de palma.

Los materiales que más contaminación presentaron fueron los que están elaborados de plástico, como el molde de aro de PVC, los botes para la cuajada de la leche y los coladores.

La mayoría de los utensilios tienen algún grado de contaminación, por lo cual es necesario realizar acciones para mejorar estas condiciones pues es ampliamente conocido que el consumo de alimentos elaborados con deficientes prácticas de higiene representan un riesgo para la salud del consumidor (Cristóbal y Mautua, 2003). Durante las visitas se observó que las mesas de trabajo y todos los utensilios implicados en la elaboración solo se lavan con agua y jabón y en ocasiones solo les pasan un trapo húmedo para retirarles el polvo. Esto es consistente con lo reportado por Romero-Castillo *et al.* (2009), para queso crema tropical en Chiapas, donde los locales muestreados elaboraban quesos con leche sin pasteurizar y carecían de buenas prácticas de higiene en instalaciones, equipos y personal.

Las desviaciones estándar observadas dan cuenta de las variaciones que existen entre queseros, los conteos observados en los utensilios pueden ser causa de contaminación cruzada (Kusumaningrum *et al.*, 2003) por lo que es necesario capacitar a los productores de quesos para que se implementen mejores prácticas de higiene en el proceso de elaboración, realizar con ellos talleres para identificar los puntos críticos de control en la producción del queso, realizar desinfecciones rutinarias a los utensilios que se ocupan y hacer conciencia del uso de agua potable en la limpieza y desinfección de los utensilios y el uso de alcohol para desinfectar las manos antes de empezar la elaboración del queso.

Las cuentas observadas en el cuajo que se utiliza para la elaboración del queso indican que el proceso de lavado y conservación no está bien realizado, ya que al secarlo al sol, atrae insectos, por ejemplo moscas las cuales recontaminan el cuajo. En Argentina, Vasek *et al.* (2004) en queso de Corrientes, reportan conteos de 4.85 ULFC para mohos y levaduras y 4.37 ULFC para coliformes en el agente coagulante, calidad inferior a lo encontrado en el Cuajo utilizado en Zacazonapan.

La maduración del queso añejo de Zacazonapan se lleva a cabo en locales en los que no se tiene control adecuado de la humedad relativa ni de la temperatura, factores que dependen de las condiciones climáticas de la zona. Esto implica que la maduración del queso de lluvias inicia con valores de humedades relativas de 70-80% y 23°C de temperatura; al finalizar la maduración, se observaron humedades relativas de 50% o menos y temperaturas cercanas a los 20°C.

En el queso madurado en la época de secas, se inicia con humedades relativas de 60% y temperaturas de 22°C y al final de la maduración se observan en la zona humedades relativas de 50% o menos y temperaturas promedio de 20°C.

La humedad relativa, la temperatura y el tiempo juegan un papel importante en la maduración de los quesos (Di Cagno *et al.*, 2007). El controlar la temperatura, por ejemplo, limita el desarrollo de microorganismos patógenos como Salmonella o estafilococos lo cuales están clasificados como organismos mesófilos que tienen un crecimiento óptimo con temperaturas cercanas a los 37°C (Folkertsma *et al.*, 1996).

Durante los experimentos, se observó que la textura de los 2 lotes de queso era diferente al final de la maduración, el queso de la estación seca es más duro que el de la estación de lluvias, éste último se desmorona con la mano al apretarlo y el de la estación seca es más firme y cuesta más trabajo desmoronarlo, incluso se tiene que apoyar en un rayador de queso.

La calidad inicial de la leche con la que el queso es producido en la estación seca es muy pobre debido a las cuentas de mohos y levaduras, bacterias mesófilas aerobias y coliformes totales. Las malas prácticas de ordeño, la ausencia de una cadena de frío y deficientes condiciones de transporte favorecen la contaminación de la materia prima (Volken *et al.*, 2003). Durante la época de lluvias, la calidad inicial de la leche es aún más pobre, causada por humedades y temperaturas más altas. Por otra parte, las condiciones de ordeño conducen a una mayor contaminación, el ordeño se realiza al aire libre en piso de tierra combinada con

estiércol, hay lluvia constante y el ganado se encuentra en estado precario permanente, lo que significa que no hay garantía de un producto final de calidad. El uso de leche de mala calidad microbiológica es una práctica común durante la producción de quesos artesanales de leche cruda (Volken *et al.*, 2003).

El queso es un alimento fermentado que puede alcanzar conteos de bacterias mayores a 9 unidades logarítmicas de CFU/g durante el proceso de producción, las cuales son necesarias para transformar la leche en queso (Cristóbal and Maurtua, 2003). Desde el cuajado, hasta los primeros 30 días se observa un incremento de las cuentas microbianas. Después, las cuentas microbianas disminuyen a lo largo de la maduración, debido a los procesos bioquímicos y microbiológicos que ocurren al interior del queso, estos procesos incluyen la reducción del contenido de agua que en consecuencia conduce a la concentración de sólidos, la acción de bacterias lácticas causan el incremento de la acidez y una reducción del pH, lo que provoca una competencia microbiana por los nutrientes (De Dea *et al.*, 2008).

Los quesos madurados durante la estación de lluvias presentan conteos más elevados durante todo el proceso de maduración debido a las prácticas higiénicas deficientes en el ordeño, lo que resulta en una calidad microbiológica pobre de la leche antes del proceso de fabricación del queso. La carga microbiológica aumentó de 0 a 30 días de maduración, Kosikowski (1977) sugiere que estos microorganismos son ácido tolerantes, debido al pH necesario para realizar el cuajado en este tipo de quesos y al proceso de acidificación.

A pesar de los resultados obtenidos en esta investigación, existe una tendencia a nivel mundial de consumir productos artesanales los cuales son buscados por su sabor y calidad ligados al lugar de origen. Marino *et al.* (2003), Leroy and De Vuyst (2004) consideran que la diversidad microbiana así como las interacciones entre las poblaciones es uno de los principales factores que contribuyen al sabor de los quesos tradicionales a través de la producción de sustancias aromáticas y sápidas como resultado del desarrollo microbiano y en la textura a través de la acidificación y producción de exopolisacáridos.

En las regiones donde se producen y distribuyen estos quesos, los consumidores buscan esas características que hacen a los quesos tradicionales únicos bajo la creencia que los quesos elaborados con leche pasteurizada son insípidos. Un volumen considerable de queso madurado Zacazonapan se sigue produciendo y hay una alta demanda en el mercado local, lo cual podría ser aún más prometedor si se ofrece un producto seguro y de calidad. Por esta razón, es necesario hacer recomendaciones para mejorar la calidad del producto final sin que se afecten las propiedades sensoriales o de textura.

Al no controlar la temperatura y la humedad relativa principalmente, la maduración de los quesos bajo condiciones ambientales favorece el desarrollo de los grupos microbianos estudiados, esto hace que no se den las condiciones necesarias para detener el desarrollo de los microorganismos en el interior de los quesos. El uso de cámaras de maduración sería una opción de los productores de queso para poder obtener productos más uniformes; los quesos madurados en época de lluvias tuvieron conteos más bajos, debido a la humedad relativa.

La calidad fisicoquímica del queso añejo de Zacazonapan, es muy variada, esta situación es común en procesos no estandarizados. Los resultados obtenidos muestran que el queso añejo de Zacazonapan, por sus características fisicoquímicas, pudiera competir con otros quesos más comerciales como el queso Tepeque de Michoacan (Solis-Méndez *et al.*, 2013).

Respecto a quesos producidos en otras partes del mundo, el queso añejo de Zacazonapan presenta calidad similar al queso Kulek de Turquía con 120 días de maduración (Dervisoglu and Oğuz, 2007), el queso Reggianito de Argentina madurado por 6 meses (Candiotti *et al.*, 2002).

Existen muchas formas de clasificar a los quesos; Sin embargo, de acuerdo a la clasificación de Alais (1970), el queso añejo de Zacazonapan se clasificaría como un queso semigraso de pasta semidura.

X. CONCLUSIÓN GENERAL

Los resultados obtenidos sugieren que el queso añejo de Zacazonapan es un producto de excelente calidad, desde el punto de vista de sus principales nutrientes. Tiene una tradición que supera los 100 años y se conoce y produce en muchos lugares del sur del estado de México e incluso en las zonas que colindan con el estado de Guerrero. Sin embargo, su producción actualmente se limita al municipio de Zacazonapan, su proceso de elaboración es artesanal y dentro del mismo se realizan acciones que difieren a la forma de elaborar quesos en otras regiones de México. Esto hace que se pueda clasificar como un queso mexicano genuino y sea considerado para acceder a una marca colectiva o denominación de origen.

En lo referente a la sanidad en las queserías, los conteos de mohos y levaduras, mesófilos aerobios y coliformes totales observados, indican la poca higiene que se tiene en los locales y en los utensilios que se usan en la elaboración del queso.

El queso añejo de Zacazonapan es un producto de gran tradición en la zona sur del estado de México, por lo que se hace necesario realizar acciones para que se elaboren quesos más seguros que no representen riesgo de transmitir enfermedades.

Existe una amplia gama de microflora que se encuentra en el queso al final del proceso de maduración del queso añejo de Zacazonapan en condiciones ambientales para las dos estaciones de producción, se observaron altos niveles para mohos y levaduras, mesófilos, *Staphylococcus* y coliformes. La maduración ambiental por 150 días no es suficiente para inhibir del desarrollo de

microorganismos patógenos en el queso, como estafilococos y coliformes específicamente.

Existen deficiencias en todo el proceso de fabricación del queso: desde la ordeña, la cual no se realiza en condiciones adecuadas; la ausencia de una cadena de frío; la limpieza en general de la quesería, el uso de utensilios con higiene deficiente; la mala calidad del agua utilizada en el proceso; y, las prácticas de fabricación deficientes los queseros. En vista de lo anterior, es necesario capacitar a todos los actores involucrados en el proceso de producción del queso, desde el productor de leche hasta el quesero.

La posible presencia de bacterias de los géneros *Listeria* y *Salmonella* indican un mayor riesgo para la salud, y, a pesar de que no se determinaron las especies presentes, se recomienda la realización de investigaciones para identificar a las mismas.

XI. LITERATURA CITADA

- Alais, Ch. (1970). *Ciencia de la leche*. Editorial Continental S. A. Barcelona España.
- Albarracín, C. Y., Poutou, P. R. y Carrascal, C. A. (2008). *Listeria spp.*, y *L. monocytogenes* en leche cruda de cabra. *Revista MVZ Córdoba* 13(2):1326-1332.
- Alvarado, R. C., Chacón, R. Z., Otoniel, R. J., Guerrero, C. B. y López, C. G. (2007). Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias ácido lácticas de un queso Venezolano ahumado andino artesanal. Su uso como cultivo iniciador. *Revista Científica, FCV-LUZ/Vol. XVII, No 3, 301 – 308.*
- Álvarez, B. R., Barragán, L. E. y Chombo, M. P. (2005). “Reglas de uso. Marca colectiva Queso Cotija Región de Origen”. El Colegio de Michoacán, México.
- Amran, A. M. and Abbas, A. A. (2011). Microbiological Changes and Determination of Some Chemical Characteristics for Local Yemeni Cheese. *Jordan J of Biol Sci.* 4, 93–100.
- Araya, V., Gallo, L., Quesada, C., Chaves, C. y Arias, M. L. (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 (2):182-186.

- Arfini, F. (2006) Productos típicos y desarrollo rural: entre calidad y políticas de gobernanza. *Revista de Estudios Agrosociales y Pesqueros*, Madrid, nº 210, pp. 13-38.
- Arroyo, P. (1999). Zacazonapan, Monografía Municipal, Gobierno del Estado de México/Asociación Mexiquense de Cronistas Municipales/Instituto Mexiquense de Cultura, Toluca, Inédita.
- Association of Official Analytical Chemists International (AOAC). (2005). *Official Methods of Analysis*, 18th ed. Washington, D. C.
- Barrios, C. H. X. (2006). Evaluación y mejoramiento de la calidad microbiológica de queso fresco a base de leche no pasteurizada, elaborado artesanalmente y comercializado en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. TESIS de Química Bióloga. Guatemala.
- Bartolomé-García, T. J. (1994). *Denominaciones de Origen y de Calidad*. En la *Agricultura y la Ganadería Extremeñas en 1993*, pp 315-332. Ed. Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales de la UEX. Badajoz (España).
- Beresford, T. P., Fitzsimons, N. A., Brennan, N. L. and Cogan, T. M. (2001). Recent advances in cheese microbiology. *Int Dairy J.* 11, 259-274.
- Bertolino, M., Dolci, P., Giordano, M., Rolle, L., Zeppa, G. (2011). Evolution of chemico-physical characteristics during manufacture and ripening of Castelmagno PDO cheese in wintertime. *Food Chemistry*. 129:1001-1011.

- Beukes, E. M., Bester, B. H., Mostert, J. F. (2001). The microbiology of South African traditional fermented milks. *International Journal of Food Microbiology* 63:189–197.
- Boletín Epidemiológico (2016). Instituto de Salud del Estado de México. Gobierno del Estado de México. [Consultado en febrero de 2016]. Disponible en: <http://salud.edomexico.gob.mx/subepi/archivos/2012/bol-3912.pdf>
- Bramley, C., Biénabe, E., and Kirsten, J. (2009). The Economics of Geographical Indications: Towards a Conceptual Framework for Geographical Indication Research in Developing Countries, in: *The Economics of Intellectual Property. Suggestions for Further Research in Developing Countries and Countries with Economies in Transition*, WIPO: Geneva. pp. 109-141.
- Bravo, A. (2008). Estudio de las poblaciones microbianas de interés biotecnológico aisladas del queso Cotija. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM, México.
- Bravo, M. A., Flores, A. I, y Quirasco, B. M. (2007). Dinámica poblacional de los microorganismos indicadores en etapas tempranas de maduración del queso cotija. XII Congreso nacional de biotecnología y bioingeniería. Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería.
- Brito, J. R. F., Santos, E. M. P., Arcuri, E. F., Lange, C. C., Brito, M. A. V. P., Souza, G. N. (2008). Retail survey of Brazilian milk and Minas frescal cheese and a contaminated dairy plant to establish prevalence, relatedness,

- and sources of *Listeria monocytogenes* isolates. *Appl Environ Microbiol.* 74:4954–4961.
- Caballero, T. A., Carrera, V. A., Legomin, F. E. (1998). Evaluación de la Vigilancia Microbiológica de alimentos que se venden en las calles. *Rev Cubana Aliment Nutr.* 12:7-10.
- Cabrera, R. B., Basilica, J. C., Fusco, A. J. (2000). Hongos en quesos artesanales de corrientes (Argentina). En cátedra de Microbiología presentada Fac. Cs. Exactas, Naturales y Agrimensura, U.N.N.E. – Laboratorio de Bromatología Campus Corrientes – Argentina: Dto. Biotecnología, Fac. Ing. Química, U.N. Litoral, Santa Fe. Disponible en <http://www.iaea.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/exactas/e-021.pdf>
Consultado: 28 de enero de 2015.
- Candioti, M. C., Hynes E., Quiberoni A., Palma S. B., Sabbag N., and Zalazar C. A. (2002). Reggianito Argentino cheese: influence of *Lactobacillus helveticus* strains isolated from natural whey cultures on cheese making and ripening processes. *International Dairy Journal* 12:923–931
- Caplice, E. and Fitzgerald, F. G. (1999). Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology* 50:131–149.
- Cardoso, V. M., Dias, R. S., Soares, B. M., Clementino, L. A., Araújo, C. P. and Rosa, C. A. (2013.) The influence of ripening period length and season on the microbiological parameters of a traditional Brazilian cheese. *Braz J Microbiol.* 44, 743-749.

- Castañeda, R. (2002). La reología en la caracterización y tipificación de quesos. *Tecnología Láctea Latinoamericana*. 26:48-53.
- Castro-Castillo, G., Martínez-Castañeda, F. M., Martínez-Campos, A. R., Espinoza-Ortega, A. (2013). Caracterización de la microbiota nativa del queso Oaxaca tradicional en tres fases de elaboración. *Rev Soc Ven Microbiol*. 33:105-109.
- Castro-Georgana, V., Díaz-Rodríguez, A. M., Torres-Torres, B. (2007). Análisis de la calidad sanitaria de las queserías y los quesos en el Estado de Tabasco en el período del 2002-2005. *Salud en Tabasco*. 13:560-567.
- Cervantes, E. F., Villegas, G. A., Cesín, V. A. y Espinoza, A. O. (2008). Los quesos mexicanos genuinos. Patrimonio cultural que debe rescatarse. Editorial Mundi Prensa. México D. F.
- Cesín, V. A., Cervantes, E. F. y Pérez, S. S. (2008). Los quesos mexicanos genuinos de Chiautla, Puebla, México. IV congreso internacional de la red SIAL. Argentina. Mar de Plata.
- Chammas, G.I., Saliba, R., Corrieu, G., Beal, C. (2006). Characterisation of lactic acid bacteria isolated from fermented milk "laban". *International Journal of Food Microbiology* 110:52–61.
- Christensen, J. E., Johnson, M. E., and Steele, J. L. (1995). Production of Cheddar cheese using a *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* SK11 derivative with enhanced aminopeptidase activity. *International Dairy Journal*, 5, 367–379.

- Collins, Y., McSweeney P. L. H., and Wilkinson M. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: A review of current knowledge. *Int. Dairy J.* 13:841–846.
- Couillerot, C. (2000). The Protected designations of origin. Institute of Rural Economy of ETH from Zurich.
- Craven, E. (2001). Geographical indications and the South Africa-European Union free trade agreement. *Area.* 33:312-320.
- Cristóbal, D. R. L. y Maurtua, T. D. J. (2003). Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* spp. *Rev Panam Salud Pública.* 14:158-164.
- De Dea, L. J., Bernini, V., De Lorentis, A., Pecorari, A., Neviani, E., Gatti, M. (2008). Parmigiano Reggiano cheese: evolution of cultivable and total lactic microflora and peptidase activities during manufacture and ripening. *Dairy Science and Technology.* 88:511-523.
- Decoster, A. (1994). Strategie marketing pour atout AOC. *Chèvre*, 201, 49-50.
- Del Valle, R. M. C. (2007). Sistema de innovación y transformaciones socioeconómicas en la agroindustria de los quesos en México. Ponencia presentada en el VII Congreso de ALASRU. Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM.
- Demarigny, Y., Beuvier, E., Buchin, S., Pochet, S. Grappin, R. (1997). Influence of raw milk microflora on the characteristics of Swiss-type cheeses. II. Biochemical and sensory characteristics. *Lait.* 77:151–167

- Dervisoglu, M. and Oğuz, A. (2007). Physicochemical and microbiological characteristics of Kulek cheese made from raw and heat-treated milk. *World J Microbiol Biotechnol* 23:451–460.
- Dewan, S. and Tamang, J. P. (2007). Dominant lactic acid bacteria and their technological properties isolated from the Himalayan ethnic fermented milk products. *Antonie Van Leeuwenhoek* 92:343–352.
- Di Cagno, R., Buchin, S., De Candia, S., De Angelis, M., Fox, P.F. and Gobbetti, M. (2007). Characterization of Italian Cheeses Ripened Under Nonconventional Conditions. *J Dairy Sci.* 90, 2689-2704.
- Díaz-Cinco, M., Acedo, E., León, D. A. (1998). Survival of *Brucella abortus* in Mexican white soft cheese processing. *Recent Research Developments in Nutrition Research.* 2:47–57.
- DOF (Diario oficial de la federación). (2010). Catalogo de Normas Oficiales Mexicanas. [On-line; consultado el 18 Oct 2010]. Disponible en: <http://www.dof.gob.mx/normasOficiales.php>
- Dolci, P., Alessandria, V., Rantsiou, K., Bertolino, M., Cocolin, L. (2010). Microbial diversity, dynamics and activity throughout manufacturing and ripening of Castelmagno PDO cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 143:71-75.
- Enciclopedia de los Municipios de México. Estado de México. (2005). Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal, Gobierno del Estado de México. www.e-local.gob.mx/work/templates/enciclo/mexico/mpios/municipios.htm

- Everett, D. W., and Auty, M. A. E. (2008). Cheese structure and current methods of analysis. *International Dairy Journal*, 18(7):759-773.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2008). "Promotion of Traditional Regional Agricultural and Food Products: A Further Step Towards Sustainable Rural Development"; 26ª Conferencia Regional de la FAO para Europa; Innsbruck (Austria); 26-27 de junio; Punto Agenda 11. Disponible en: www.fao.org [Fecha de consulta] 26 de marzo de 2013.
- Farkye N. Y. (2002). Microbiology of soft cheese, in: (Dairy Microbiology Handbook 3th, Richard K. Robinson). Inc. New York, USA. 479–513.
- Farkye, N. Y. (2004). Cheese technology. *International Journal of Dairy Technology*, 57(1):91-98.
- Fente-Sampayo, C. A., Vázquez-Belda, B., Rodríguez-Otero, J. L., Franco-Abuin, C., Quinto-Fernandez, E., Cepeda-Saez, A. (2002). Microflora predominante en las queserías de Arzúa (España). *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 3:271-276.
- Folkertsma, B., Fox, P. F. and McSweeney, P. L. H. (1996). Accelerated ripening of Cheddar cheese at elevated temperatures. *Int Dairy J.* 6, 1117–1134.
- Fonte, M. T. A, y Sacco V. (2006). Desarrollo rural e identidad cultural: reflexiones teóricas y casos empíricos. RIMISP – Territorios con identidad cultural. Disponible en: <http://www.rimisp.org/getdoc.php?docid=5102> [Fecha de consulta] 12 de marzo de 2015.

- Fox, P. F. (1989). Proteolysis during cheese manufacture and ripening. *Journal of Dairy Science*, 72, 1379 –1408.
- Fox, P. F., Law, J, McSweeney, P. and Wallace, J. (1993). Biochemistry of cheese ripening. En P. F. Fox (Ed.). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Vol. 1 (pag. 389). General Aspects. Chapman & Hall, London.
- Fresno, J. M., Tornadijo, M. E., Carballo, J., Gonzalez Prieto, J., Bernardo, A. (1996). Characterization and biochemical changes during the ripening of a Spanish craft goat's milk cheese (Armada variety). *Food chem.*, 55:225-230.
- Galizzi, G. (1998). Il formaggi DOC/DOP nel nuovo contesto competitivo. *Latte*, 23 (7), 76-85.
- García, E. (1981). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen, adaptado para las condiciones de la República Mexicana. 3ª Ed. Offset., Lario Ed. S.A. 252 pag.
- García, M. (2005). Potencialidades y limitantes de la agroindustria rural quesera en la parroquia Moroturo, Estado Lara. Centro de Investigaciones Agrícolas del Estado Lara (INIA). pp 42–45. Disponible en: http://www.ceniap.gov.ve/pbd/RevistasTecnicas/inia_divulga/numero%204/garcia_m.pdf. [Fecha de consulta] 10 de octubre de 2014.
- García, V. (2006). Aislamiento de microorganismos con mayor actividad lipolitica del queso Cotija. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM.
- Gay, M. and Amgar, A. (2005). Factors moderating *Listeria monocytogenes* growth in raw milk and in soft cheese made from raw milk. *Lait*. 85, 153–170.

- Gomes da Cruz, A., Alonso B. F. C., Batista de Souza, C.H., Fonseca F. J. A. and Isay S. S. M. (2009). Probiotic cheese: health benefits, technological and stability aspects. *Trends in Food Science & Technology*. 20:344-354.
- Goodman, L. (1961). *Snowball Sampling*, *Annals of Mathematical Statistics*, 32:148-170.
- Granados, L. G. y Álvarez, C. J. (2007). Caracterización de las explotaciones de vacuno lechero para la implantación de un sistema de denominaciones de origen. El caso del queso Turrialba en Costa Rica. *Interciencia* 32(02):85-89.
- Granados, L. y Álvarez, C. (2002). Variabilidad de establecer el sistema de denominaciones de origen de los productores agroalimentarios en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*. 26(01):63-72.
- Granados, R. L. G. (2004). Indicaciones geográficas y denominaciones de origen. *Un aporte para su implementación en Costa Rica*. IICA - PRODAR – MAG – CNP.
- Grappin, R., and Beuvier, E. (1997). Review: Possible implications of milk pasteurization on the manufacture and sensory quality of ripened cheese. *International Dairy Journal*, 7, 751 –761.
- Greenwood, M. H, Roberts, D., Burden, P. (1991). The occurrence of *Listeria* species in milk and dairy products: A national survey in England and Wales. *International Journal of Food Microbiology*. 12:197–206.

- Grundelius, A. U., Lodaite, K., Östergren, K., Paulsson, M., and Dejmek, P. (2000). Syneresis of submerged single curd grains and curd rheology. *International Dairy Journal*, 10(7):489-496.
- Hernández, B. V., Quirasco, B. M. y Quintero, S. B. (2009). Un acercamiento al mundo del queso Cotija Región de Origen MC: arte y tradición de México. *CULINARIA Revista Virtual Gastronómica*. No. 5 PP. 5 - 19 UAEM.
- Hernández, D. N., Durán, M. T. (2013). Calidad sanitaria de los puntos iniciales de proceso de manufactura de queso. *Horizonte sanitario*. 12:58-62.
- Hernández, M. C., Hernández, M. A., Villegas De Gante, A. Z. y Aguirre, M. E. (2011). El proceso socio-técnico de producción de Queso Añejo de Zacazonapan, Estado de México. *Rev. Méx. Cienc. Pecu.* 2, 161-176.
- Hernández, N. (2007). Identificación de bacterias proteolíticas aisladas de queso Cotija, un estudio microbiológico y fisicoquímico. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM.
- Hernández-Briones, V. (2007). Queso Cotija: Estudio del análisis fisicoquímico, proximal y actividad antioxidante. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM.
- Hernández-Morales, C., Hernández-Montes, A., Aguirre-Mandujano, E. and Villegas de Gante, A. (2010). Physicochemical, microbiological, textural and sensory characterisation of Mexican Añejo cheese. *International Journal of Dairy Technology*. 63:552-560.

- Ibañez, F. C., S. Loygorri, A. Ordoñez, I. et al. Torre, P. (1998). Evaluación instrumental y sensorial de la textura en quesos de oveja con Denominación de Origen. *Alimentaria*. 292: 49 – 53
- Ilbery, B., Kneafsey, M. and Bamford, M. (2000). Protecting and promoting regional speciality food and drink products in the European Union. *OutLook on Agriculture* 29(1):31-37.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática) (2005). *Carta de uso actual del suelo y vegetación*. Serie III. México.
- Innocente, N. (1997). Free amino acids and water-soluble nitrogen as ripening indices in Montasio cheese. *Lait* 77:359–369.
- Izco, J. M., and Torre, P. (2000). Characterization of volatile flavour compounds in Roncal cheese extracted by the purge and trap method and analyzed by GC–MS. *Food Chemistry*, 70, 409–417.
- Johnson, E. A., Nelson, J. H. and Johnson, M. (1990). Microbiological safety of cheese made from heat-treated milk. II. *Microbiology. J. Food Prot.* 53, 519-540.
- Kosikowski, F. (1977). *Cheese and fermented milk foods*. Brooktondale, New York.
- Kusumaningrum, H. D., Riboldi, G., Hazeleger, W. C., Beumer, R. R. (2003). Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. *International Journal of Food Microbiology*. 85:227–236.

- Leroy, F. and De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology* 15, 67–78.
- Ley de la propiedad industrial. (1991). Nueva Ley publicada en el Diario Oficial de la Federación el 27 de junio.
- Linnan, M. J., Mascola, L., Lou, X. D., Goulet, V., May, S., Salminen, C. (1988). Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. *The New England Journal of Medicine*. 319:823–828.
- Lück, H. (1990). Quality control in the Dairy Industry. En: Robinson RK, comp. *Dairy microbiology*. London: Elsevier Science Publishers.
- Macazaga, O. C. (1979). *Diccionario de la lengua náhuatl*. Editorial Innovación. México.
- Maldonado, R. and Llanca, L. (2008). Estudio de la calidad del queso de mano comercializado en el municipio Girardot, Estado Aragua, Venezuela. *Rev. Científica FCV LUZ*. 4, 431-436.
- MAPA (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación). (2002). *Anuario de Estadística Agroalimentaria*, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid.
- Marino, M., Maifreni, M. and Rondinini, G. (2003). Microbiological characterization of artisanal Montaisa cheese: analysis of its indigenous lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters* 229, 133–140.
- Marth, E. and Steele, J. (1998). *Applied dairy microbiology*. Ed. Marce Dekker, INC. Wisconsin, USA. 516 p.

- Mathara, J.M., Schillinger, U., Kutima, P.M., Mbugua, S.K., Holzapfel, W.H. (2004). Isolation, identification and characterization of the dominant microorganisms of kule naoto: the Maasai traditional fermented milk in Kenya. *International Journal of Food Microbiology* 94:269–278.
- McSweeney P. L. H and Sousa M. J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Lait* 80:293-324.
- McSweeney P. L. H. (2004) Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology* 2/3 127–144.
- Mercado, C. E. (2007). Los ámbitos normativos, la gestión de la calidad y la inocuidad alimentaria: una visión integral. *Agroalimentaria*. 12:119-131.
- Meyer-Broseta, S., Diot, A., Bastian, S., Rivière, J. and Cerf, O. (2002). Estimation of low bacteria concentration: *Listeria monocytogenes* in raw milk. *Int J Food Microbiol.* 80, 1-15.
- Minitab. (2003). Statistical software v14. User's guide II: Data analysis and quality tools, graphics, and Macros. USA.
- Neves, L. and Cristovão, A. (1996). Pensar as práticas. Á importância da formação na valorização 2 produtos agroalimentares tradicionais: á experiencia do CEARTE. Asociación Portuguesa para el Desarrollo Local en el Medio Rural. Serie de Cuadernos Pensar.

Norma Oficial Mexicana (1994). NOM-114-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de salmonella en alimentos. Publicada en el Diario de la Federación el 28 de abril de 1994. México: DOF.

Norma Oficial Mexicana (2000). NOM-127-SSA1-1994. [Modificación] Salud Ambiental, agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Publicada en el Diario de la Federación el 22 de noviembre de 2000. México: DOF.

Norma Oficial Mexicana (2010). NOM-243-SSA1-2010. Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. Publicada en el Diario de la Federación el 27 de septiembre de 2010. México: DOF.

Norma Oficial Mexicana. (1994). NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Publicada en el Diario de la Federación el 23 de marzo de 1994. México: DOF.

Norma Oficial Mexicana. (1994). NOM-109-SSA1-1994. Bienes y servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Publicada en el Diario de la Federación el 4 de noviembre de 1994. México: DOF.

Norma Oficial Mexicana. (1994). NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Para la preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Publicada en el Diario de la Federación el 28 de abril de 1994. México: DOF.

- Norma Oficial Mexicana. (1994). NOM-111-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Publicada en el Diario de la Federación el 28 de abril de 1994. México: DOF.
- Norma Oficial Mexicana. (1994). NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. Publicada en el Diario de la Federación el 28 de abril de 1994. México: DOF.
- Norma Oficial Mexicana. (2008). NOM-251-SSA1-2009. Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. Publicada en el Diario de la Federación el 10 de octubre de 2008. México: DOF.
- Olerta, C. S., Sanz, E., Gonzalez, F. and Torre, P. (1999). Microbiological and physicochemical characteristics of Cameros cheese. *Food Microbiol.* 16, 615-621.
- OMPI (2002). Revisión sobre las Indicaciones Geográficas: antecedentes, naturaleza de los derechos, sistemas vigentes de protección, y obtención de protección en otros países. Organización Mundial de la Propiedad industrial. Docs. SCT/8/4 y SCT/8/5. Ginebra, Suiza. 39 pp.
- Oyarzun M. T. y Tartanac, M. (2002). Estudio sobre los principales tipos de sellos de calidad en alimentos a nivel mundial: estado actual y perspectivas de los sellos de calidad de los productos alimenticios de la agroindustria rural en América Latina. FAO (Organización de las Naciones unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT), Oficina Regional para América Latina y el Caribe, Santiago, CL. 97 p.

- Oyarzún, M. T. (2001). Propuesta de sellos de calidad para productos de la pequeña agroindustria rural de América Latina. Conferencia electrónica sobre certificación de la calidad de alimentos en América Latina. Oficina Regional de la FAO para América y el Caribe. www.rlc.fao.org/Foro/alimentos/sellos.pdf
- Oyarzun, M., Tartanac, F. y Riveros, H. (2002). Propuesta de un sello de calidad para promover productos de la pequeña agroindustria rural en América Latina. FAO (Organización de las Naciones unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT), Oficina Regional para América Latina y el Caribe, Santiago de Chile.
- Palacio, C., Vasek, O. M., Fusco A. J. M. (2002). Efecto de la temperatura en el tiempo de maduración de la cuajada durante la elaboración de Queso Artesanal de Corrientes. Disponible en: <http://www1.unne.edu.ar/cyt/2002/08-Exactas/E-009.pdf>. [Fecha de consulta] 06 de abril de 2015.
- Pandey, P. K, Ramaswamy, H. S. and St-Gelais, D. (2003) Evaluation of pH change kinetics during various stages of Cheddar cheese-making from raw, pasteurized, micro-filtered and high-pressure-treated milk. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie* 36 497–506.
- Pappa, E. C. and Sotirakoglou, K. (2008). Changes of free amino acid content of Teleme cheese made with different types of milk and cultura. *Food Chemistry* 111:606–615.

- Peláez, P., Fresno, M., Rodríguez, E., Darías, J., Díaz, C. (2004). Chemometric studies of fresh and semi-hard goat's cheeses produced in Tenerife (Canary Islands). *Food Chem.*, 88:361-366.
- Poméon, T. (2007). *EL QUESO COTIJA, MÉXICO: Un producto con marca colectiva queso "Cotija Región de origen", en proceso de adquisición de una Denominación de Origen*. Consultoría realizada para la FAO y el IICA en el marco del estudio conjunto sobre los productos de calidad vinculada al origen. *CIESTAAM, Universidad Autónoma Chapingo*.
- Ramírez, N. J. S. (2010). Queso molido nariñense. *Tecnología Láctea Latinoamericana* 59:56-59.
- Reséndiz, M. R., Hernández, Z. J. S., Ramírez, H. R., Pérez, A. R. (2012). El queso fresco artesanal de la canasta básica y su calidad sanitaria en Tuzupán, México. *Acta Iberoamericana de Conservación Animal*. 2:253-255.
- Riveros, H., Vandecandelaere, E., Tartanac, F., Ruíz, C., y Pancorbo, G. (2008). Calidad de los Alimentos vinculada al Origen y las tradiciones en América Latina: estudios de casos. Lima, FAO - IICA. 98p.
- Robinson, R. K., Tamime, A. Y. (2002). Maintaining a clean working environment. In: Robinson, R.K. (Ed.), *Dairy Microbiology Handbook, The Microbiology of Milk and Milk Products*, third ed. Wiley, New York, pp. 561–591
- Rodríguez, E. (2001). La protección de las Denominaciones de Origen en México. In: Simposio sobre la protección internacional de las indicaciones

- geográficas. Doc. OMPI/GEO/MVD/017. OMPI-DNPI. Ministerio de Industria, Energía y Minería. Montevideo, Uruguay. 16 pp
- Rojas-Herrera, R.A. y González, F. T. (2006). Detección e identificación de bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos mediante la reacción en cadena de la polimerasa. *Bioquímica* 31(2): 69-76.
- Romero-Castillo P. A., Leyva-Ruelas G., Cruz-Castilo J. G., Santos-Moreno A. (2009). Evaluación de la calidad sanitaria de quesos crema tropical mexicano de la región de Tonalá, Chiapas. *Rev. Mex. Ing. Quím.* 8:111-119.
- Salles, C., Herve, C., Septier, C., Demaizieres, D., Lesschaeve, I., Issanchou, S., et al. (2000). Evaluation of taste compounds in water-soluble extract of goat cheeses. *Food Chemistry*, 6, 429–435.
- Sengul, M. and Ertugay, M. F. (2006). Microbiological and chemical properties of cheese Helva produced in Turkey. *Int J of Food Prop.* 9, 185-193.
- Shahab, L. A. R., Ehsani, M. R., Mirdamadi, S. and Ebrahim, Z. M. M. A. (2012). Changes in physicochemical and organoleptic properties of traditional Iranian cheese Lighvan during ripening. *International Journal of Dairy Technology* Vol 65, No 1 February. 64-70.
- Sharma, M. J., Eastridge, J., Mudd, C. (2009). Effective household disinfection methods of kitchen sponges. *Food Control.* 20: 310-313.
- Solis-Méndez, A. D., Martínez L. R., Solorio S. J., Estrada F. J. G., Avilés N. F., Gutiérrez I. A. T. y Castelán O. O. A. 2013. Características del queso Tepeque de la Tierra Caliente de Michoacán: un queso producido en un

sistema silvopastoril intensivo. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 16: 201-214.

Statgraphics® Centurion XVII. (2014). User Manual. Statpoint Technologies, Inc. USA.

Su, Y. C. and Ingham, S. (2000). Influence of milk centrifugation, brining and ripening conditions in preventing gas formation by *Clostridium* spp. in Gouda cheese. *Int J Food Microbiol.* 54, 147-154.

Taniwaki, M. H., Van Dender, A. G. F. (1992). Occurrence of Toxigenic molds in Brazilian cheese. *Journal of Food Protection.* 3:187-191.

Tarakci, Z. and Kucukoner, E. (2006) Changes in physicochemical, lipolysis and proteolysis of vacuum-packed Turkish Kashar cheese during ripening. *Journal of Central European Agriculture* 7:459–469.

Tavaria, F. K., Franco, I., Carballo, F. J., Malacata, F. X. (2003). Amino acid and soluble nitrogen evolution throughout ripening of Serra da Estrela cheese. *International Dairy Journal.* 13; 537-545.

TLCAN (1994). Tratado de Libre Comercio de America del Norte. Secretaria de economía. Disponible en http://www.sice.oas.org/Trade/nafta_s/Indice1.asp. [Fecha de consulta: 23 octubre de 2010].

Torrez-Llañez, M. J., Vallejo-Córdoba, B., Díaz-Cinco, M. E., Mazorra-Manzano, M. A., González-Córdoba, A. F. (2006). Characterization of the natural microflora of artisanal Mexican Fresco cheese. *Food Control.* 17:683-690.

- Upadhyay, V. K., McSweeney, P. L. H., Magboul, A. A. A., and Fox, P. F. (2004). Proteolysis in cheese during ripening. In P. F. Fox, P. L. H. McSweeney, T. M. Cogan, and T. P. Guinee (Eds.), *Cheese: chemistry, physics and microbiology* (3rd ed., pp. 391–433). Amsterdam: Elsevier Academic Press.
- Utrera, M. (2007). Queso Cotija autentico: estudio de la relación de sus características sensoriales, texturales y de color. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM.
- Valenzuela-Zapata, A. G. (2007). Las denominaciones de origen Tequila y Mezcal y la biodiversidad en el género *Agave* sp. Conferencia dictada en el Seminario "Biodiversidade e Denominações de Origem: Uma problemática global", en la Escola Superior Agrária de Coimbra (ESAC). Portugal.
- Van de Kop, P., Sautier D., and Gerz A. (2006). "Origin-Based Products: lessons for pro-poor market development"; KIT y CIRAD; Amsterdam (Países Bajos), París (Francia); Disponible en: <http://www.narcis.nl/publication/RecordID/oai:search4dev.nl:281684> [Fecha de consulta] 23 de junio de 2014.
- Vandecandelaere, E., Arfini F., Belletti G. and Marescotti A., (eds) (2010). *Linking People, Places and Products: A guide for promoting quality linked to geographical origin and sustainable geographical indications*. Rome-Italy, FAO - Siner-GI. 193p.

- Vanegas, L. M., González, G. L., Martínez, L. A. y Buitrago, F. (2008). Aislamiento y caracterización de cepas de *Staphylococcus enterotoxigénicos* aislados de quesos en Bogotá. *Revista MVZ Córdoba* 13(2):1288-1293.
- Vasek, O. M., Cabrera, R., Coronel, G. J., De Giori, G. S., Fusco, A. J. V. (2004). Análisis de riesgos en la elaboración de queso artesanal de Corrientes (Argentina). *FACENA*. 20:13-22.
- Vázquez, F. C., Espinoza, V. E., Castelán, O. O. A., Espinoza, O. A. (2009). Microbiological quality of artisan made Mexican Botanero cheese in the central highlands. *J Food Safety*. 30:40–50.
- Villegas de Gante, A. y Cervantes, E. F. (2011). La genuinidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales mexicanos. *Estudios Sociales*. 19:145-164.
- Villegas, A. (2012). Los quesos mexicanos genuinos (Necesidad de su rescate y revalorización). *In: Fernando Cervantes y Abraham Villegas. La leche y los quesos artesanales en México. México. Editorial Miguel Ángel Porrúa. pp: 123- 142.*
- Villegas, G. A. (1993). *Los Quesos Mexicanos*, Chapingo, México, UACH.
- Villegas, G. A. (2003). *Los Quesos Mexicanos (segunda edición)*. Universidad Autónoma Chapingo, México.
- Volken, S. C. F., Dalla, R. T. and Zachia, A. A. (2003). Changes in the microbiological and physicochemical characteristics of Serrano cheese during manufacture and ripening. *Braz J Microbiol*. 34, 260-266.

Watkinson, P., Coker, C., Crawford, R., Dodds, C., Johnston, K., McKenna, A. and White, N. (2001). Effect of cheese pH and ripening time on model cheese textural properties and proteolysis. *International Dairy Journal*. 11:455-464.

Zamfir, M., Vancanneyt, M., Makras, L., Vaningelgem, F., Lefebvre, K., Pot, B., Swings, J., De Vuyst, L. (2006). Biodiversity of lactic acid bacteria in Romanian dairy products. *Systematic and Applied Microbiology* 29:487–495.