



## EVALUACIÓN DE LA CALIDAD SANITARIA DE QUESOS CREMA TROPICAL MEXICANO DE LA REGIÓN DE TONALÁ, CHIAPAS

### EVALUATION OF HEALTH QUALITY OF MEXICAN TROPICAL CREAM CHEESES IN THE REGION OF TONALÁ, CHIAPAS

P. A. Romero-Castillo<sup>1\*</sup>, G. Leyva-Ruelas<sup>1</sup>, J. G. Cruz-Castillo<sup>2</sup> y A. Santos-Moreno<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Departamento de Ingeniería Agroindustrial (Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria). Universidad Autónoma Chapingo.*

<sup>2</sup> *Centro Regional Universitario Oriente. Universidad Autónoma Chapingo, Huatusco, Veracruz.*

Recibido 9 de Julio 2008; Aceptado 19 de Enero 2009

#### Resumen

Se colectaron muestras de queso crema tropical, de cinco queserías seleccionadas aleatoriamente en Tonalá, Chiapas. Con dos modalidades, quesos elaborados con leche pasteurizada y sin pasteurizar. Los muestreos se realizaron en enero, febrero, marzo y abril de 2007. Los objetivos del presente trabajo fueron: Evaluar microbiológicamente el queso crema tropical en producto terminado, en función de la presencia de bacterias mesófilas aerobias, patógenas como *Salmonella spp.* y *E.coli*. Además, determinar las características fisicoquímicas del queso crema tropical y su influencia en el desarrollo de *Salmonella spp.* y *E.coli*. Las variables microbiológicas evaluadas fueron: número de Bacterias Coliformes Fecales (BCF), *E. coli*, Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA) y detección de *Salmonella*, y fisicoquímicas: actividad acuosa ( $A_w$ ), pH, acidez total, humedad, grasa, contenido de proteína, calcio, cloruro de sodio (NaCl) y cenizas %. Los datos se analizaron mediante un análisis univariado de varianza (ANOVA) y análisis canónico discriminante (ACD). Los quesos no cumplieron con las normas microbiológicas para BCF, *E.coli* y *Salmonella*. El ANOVA mostró diferencias significativas ( $\alpha \leq 0.05$ ) entre las queserías con respecto al número de bacterias coliformes fecales. En cuanto al número de BMA el (ANOVA), no mostró diferencias significativas ( $\alpha = 0.05$ ) entre los cinco tratamientos. El análisis canónico discriminante (ACD), mostró que los quesos crema tropical presentaron diferencias en sus características microbiológicas y fisicoquímicas, en función de las distintas fechas de muestreo.

*Palabras clave:* queso crema tropical, variables fisicoquímicas y microbiológicas.

#### Abstract

Tropical cream cheese samples were obtained from five cheese-making enterprises randomly selected in Tonalá, Chiapas. With two modalities: cheeses made from pasteurized milk and cheeses made from raw milk. Samples were taken in January, February, March and April of 2007. The objectives of this research work were: to microbiologically evaluate the tropical cream cheese in finished product form, in function of the presence of mesophilic aerobic bacteria, pathogens such as *Salmonella sp.* and *E. coli*; and to determine the physiochemical characteristics of the tropical cream cheese and their influence on the development of *Salmonella sp.* and *E. coli*. Microbiological variables were number of fecal coliform bacteria (FCB), *E. coli*, number of mesophilic aerobic bacteria (MAB) and detection of *Salmonella sp.* The physiochemical variables were water activity ( $A_w$ ), pH, total acidity, protein, moisture, fat content, sodium chloride (NaCl), calcium and ashes %. The data were analyzed by univariate Analysis of Variance (ANOVA) and canonical discriminant analysis (CDA). The cheese did not meet microbiological standards for FCB, *E. coli* and *Salmonella*. The ANOVA showed significant differences ( $\alpha \leq 0.05$ ) among the cheeses with respect to the number of fecal coliform bacteria. The number of MAB, (ANOVA) showed no significant differences ( $\alpha = 0.05$ ) among the five treatments. The canonical discriminant analysis (CDA) showed that the tropical cream cheeses presented differences in their physiochemical and microbiological characteristics, depending on the different sampling dates.

*Keywords:* tropical cream cheese, physicochemical and microbiological variables.

\* Autor para la correspondencia. E-mail: roca555@yahoo.com.mx

## 1. Introducción

La presencia de microorganismos patógenos 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). Lo anterior, es importante debido a los altos niveles de humedad que presentan los quesos frescos mexicanos, lo que provoca el desarrollo de microorganismos patógenos como *Salmonella* y *E. coli* serotipo O157:H7 causantes de infecciones e intoxicaciones alimentarias.

Los quesos elaborados con leche sin pasteurizar, están asociados con brotes de enfermedades alimentarias, con mayor frecuencia que los fabricados a partir de leche pasteurizada, aunque también pueden ocasionar intoxicación alimentaria por una inadecuada pasteurización o porque los quesos elaborados con leche pasteurizada se contaminan posteriormente con micro-organismos patógenos (Cristóbal y Mautua, 2003).

Los problemas por *Salmonella* en leche y quesos son de los más frecuentes en países desarrollados y subdesarrollados (Urquilla, 2005). En 2002, en México se registraron

1 364 brotes infecciosos por este patógeno (INEGI, 2002), con predominancia de los serotipos *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhimurium* (Gutiérrez, 2000). Durante 2005, se encontró que de 106 991 muestras de productos lácteos y alimentos preparados, el 27% estuvo fuera de especificación, el 9% rebasó los límites de coliformes totales, el 10% de coliformes fecales, el 1% de *E. coli* y el 1% de *Salmonella*. Siendo los productos lácteos los que presentaron un porcentaje mayor de contaminación con 43% y alimentos preparados con 32%. Hasta abril del 2006, se han analizado 36 607 muestras de productos lácteos, de los cuales, el 23% se encuentra fuera de especificación, el 8% rebasó los límites de coliformes totales, el 9% de coliformes fecales, el 1% de *E. coli* y el 1% de *Salmonella*. Los grupos con mayor porcentaje de contaminación fueron productos lácteos con 37% y alimentos preparados con 29% (Díaz, 2007).

En 2001, se observó la incidencia de 4 serotipos de *E. coli* EHEC: *Enterohemorrágico*. EIEC: *Enteroinvasiva*, ETEC: *Enterotoxigénica* y EPEC: *Enteropatógena* en Chiapas, reportando 800 casos de infecciones entre los meses de junio y julio (INDRE, 2001).

El queso crema tropical, es un queso de pasta blanda desmineralizada, fresca y prensada, de cuajada mixta (ácido-enzimática) y con pH de 4.7 a 5.8. Es elaborado con leche cruda o bronca de ganado de doble propósito y con un contenido de sal de 5 a 7 %, su presentación es la de un prisma rectangular envuelto con papel celofán rojo o amarillo y con un peso de 500 g a 1 kg (Villegas de Gante, 2004).

El queso crema tropical que se fabrica en el municipio de Tonalá es elaborado con leche bronca y de manera artesanal. En este queso, existe la probabilidad de crecimiento de bacterias patógenas como *Salmonella spp.* y *E. coli*.

Por lo anterior, los objetivos del presente trabajo fueron: Evaluar microbiológicamente el queso crema tropical en producto terminado, en función de la presencia de bacterias mesófilas aerobias, patógenas como *Salmonella spp.* y *E. coli*. Además, determinar las características físico-químicas del queso crema tropical y su influencia en el desarrollo de *Salmonella spp.* y *E. coli*.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1. Origen de las muestras

Las muestras de queso crema tropical fueron recolectadas de cinco queserías seleccionadas aleatoriamente, durante enero, febrero, marzo y abril de 2007, correspondientes, al muestreo uno, dos, tres y cuatro respectivamente. Se observó de manera detallada las condiciones higiénicas de cada una de las queserías como lo indica la Norma Oficial Mexicana, NOM- 120- SSA1- 1994e. Las queserías pertenecían al municipio de Tonalá, Chiapas, que se ubica en los límites de la Sierra Madre y de la llanura Costera del Pacífico, sus coordenadas son 16° 06' latitud norte y 93° 45' latitud este, a una altitud de 60 m (Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal, 2005).

### 2.2. Relación de tratamientos

Cada quesería se consideró como un tratamiento, dando un total de cinco (Tabla 1), con cinco repeticiones para cada fecha de muestreo, dando un total de 100 unidades experimentales.

Tabla 1. Relación de tratamientos del experimento.

Tratamiento	Queso crema tropical
Q <sub>1</sub>	Quesos con leche sin pasteurizar
Q <sub>2</sub>	Queso con leche sin pasteurizar
Q <sub>3</sub>	Queso con leche sin pasteurizar
Q <sub>4</sub>	Queso con leche sin pasteurizar
Q <sub>5</sub>	Queso con leche pasteurizada

### 2.3. Toma de muestra

Los quesos muestreados pesaron 1 kg y tuvieron 48 horas de elaborados, fueron tomados asépticamente y colocados en bolsas plásticas Ziploc® estériles de 27 × 28 cm. Se registró la temperatura ambiente y de la cámara de refrigeración, los quesos se etiquetaron con fecha, hora, domicilio, razón social y tipo de materia prima con que fue elaborado el producto (leche pasteurizada o leche sin pasteurizar). Las muestras se almacenaron a 4 °C en una hielera, para

su traslado al Laboratorio de Investigación y Microbiología en el Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Autónoma Chapingo.

#### 2.4. Análisis microbiológico

Los análisis microbiológicos se hicieron con tres repeticiones y fue analizada la cuenta total de bacterias mesófilas, coliformes fecales y por duplicado; *Salmonella spp.* y *E. coli* conforme lo señalan las normas oficiales mexicanas NOM-092-SSA1-1994b, NOM-113-SSA1-1994c, NOM-114-SSA1-1994d.

#### 2.5. Homogenización y preparación de diluciones decimales de la muestra

Del centro de cada muestra unitaria, se tomaron aseptícamente 25 g y se depositaron en un vaso metálico de licuadora que contenía 225 mL de solución diluyente estéril de peptona de caseína al 1% (Dibico®), se molió a baja velocidad a 200 rpm, de 1 a 2 minutos, hasta lograr la completa homogeneización. Posteriormente, se prepararon diluciones decimales de  $1 \times 10^{-1}$  a  $1 \times 10^{-6}$ .

#### 2.6. Determinación de bacterias mesófilas aerobias en placa (BMA)

La determinación de las bacterias mesófilas aerobias en placa se realizó conforme lo señala la Norma Oficial Mexicana, NOM-092-SSA1-1994b.

#### 2.7. Cuantificación de Bacterias Coliformes Fecales (BCF)

De las diluciones  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$  se tomó 1 mL y se sembró por difusión en agar Rojo Violeta Bilis (BD bioxon®). Se incubaron las placas a 37 °C por 24 horas. Se seleccionaron placas con colonias entre 15 y 150, para calcular el número de ufc g<sup>-1</sup>, como lo indica la NOM-113-SSA1-1994c.

#### 2.8. Aislamiento e Identificación de *E. coli*

Se seleccionaron las colonias sospechosas de *E. coli*, de color rojo oscuro y fueron sembradas por estría en placas con Agar Eosina Azul de Metileno (EMB) (BD bioxon®) por duplicado y se incubaron por 24 horas a 37 ± 1 °C. De las colonias negras con brillo metálico típicas de *E. coli*, se tomaron muestras para verificar la morfología y el tipo de Gram. Una vez verificada la pureza de los cultivos, se transfirieron a tubos con agar nutritivo (Dibico) para su conservación a 5 °C.

#### 2.9. Identificación Bioquímica de *E. coli*

Para la identificación de *E. coli* se utilizaron las siguientes pruebas bioquímicas (IMVIC): Indol,

Rojo de Metilo (RM), Voges Proskauer (VP) y Citrato. Para la prueba de indol, se prepararon tubos de ensaye con 7 mL de triptona al 1% (Dibico®), para la prueba de RM y VP, se prepararon tubos de ensaye con 7 mL del medio Clark y Lubs (Dibico®) y para la prueba de citrato, se utilizó agar Citrato de Simmons (BD-Bioxon). Todos los tubos se prepararon por duplicado y se incubaron a 37 °C por 24 horas, incluyendo tubos sin inocular (testigos), en cada una de las pruebas bioquímicas.

#### 2.10. Detección de *Salmonella spp.* e identificación bioquímica y serológica

La detección de *Salmonella spp.*, la identificación bioquímica y serológica se realizó conforme lo señala la Norma NOM-114-SSA1-1994d.

#### 2.11. Variables fisicoquímicas de los quesos

##### 2.11.1. Actividad acuosa ( $a_w$ )

Las mediciones de actividad acuosa en todos los quesos se realizaron con un medidor de actividad acuosa Aqualab (Decagon, WA, E.E.U.U.), a una temperatura de 25 °C. Las mediciones en los quesos se hicieron con tres repeticiones.

##### 2.11.2. pH, acidez, humedad, cenizas, grasa, proteína, calcio y cloruro de sodio

Las determinaciones de pH en los quesos se realizaron con un electrodo de superficie (Hanna instruments), calibrando con una solución buffer pH 7.0 (J.T. Baker, México) y a pH 4.0 (J.T. Baker, México).

La acidez titulable en las muestras de quesos, se determinó según el método 15.004 de la AOAC, (1998). La determinación de humedad y materia seca en los quesos, se realizó por el método de estufa (Kirk, y col., 2002); las grasas por el método de Gerber; proteína cruda por el método de Kjeldahl, calcio y sodio se determinaron por espectrofotometría (AOAC, 1998).

#### 2.12. Análisis estadístico

Se realizó un Análisis de varianza (ANOVA) para determinar si existían diferencias significativas entre las queserías muestreadas, considerando el número de BCF, BMA, las variables fisicoquímicas y las cuatro fechas muestreadas. Además, se realizaron dos Análisis Canónicos Discriminantes (ACD) (Espinosa-Solares y col., 2005). El primero, para definir los perfiles de los quesos de cada tratamiento; el segundo, para establecer diferencias entre los quesos según las fechas de muestreo. (V8, 2004, SAS Inst., Inc., Cary, NC, USA).

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1. Coliformes fecales e Identificación de *E. coli*

El análisis de varianza (ANOVA) mostró que existen diferencias significativas ( $\alpha \leq 0.05$ ) entre las queserías con respecto al número de bacterias coliformes fecales. La NOM-121-SSA1-1994a para quesos frescos madurados y procesados marca límites microbiológicos para el número de coliformes fecales (BCF) 100 ufc g<sup>-1</sup>. Los datos que se muestran en la Tabla 2, sobre el número de BCF de los quesos fabricados con leche sin pasteurizar, superan ampliamente la norma de referencia. Estos resultados, indican la presencia de patógenos y se debe a que en los cuatro tratamientos (Q<sub>1</sub>, Q<sub>2</sub>, Q<sub>3</sub> y Q<sub>4</sub>), se elaboran quesos con leche sin pasteurizar, además, carecieron de buenas prácticas de higiene en las instalaciones, equipo, personal e insumos. Se observó que los operarios no utilizaban cofia, cubrebocas y botas. El agua para proceso no tuvo tratamiento previo, se utilizó directamente de la red de suministro municipal. Los locales no contaban con barreras para evitar la entrada de insectos, roedores y otros animales. El equipo y utensilios eran de madera, dificultando su limpieza y convirtiéndose en una fuente de contaminación microbiana. Para la venta, los quesos se envolvieron manualmente con plásticos tipo “Kleen Pack”, en papel encerado y de aluminio, sobre estos materiales se colocaron las etiquetas y papel celofán rojo o amarillo. Todos estos materiales no contaron con las medidas de higiene que establece la norma NOM-092-SSA1-1994e.

Al comparar, los datos de BCF 6.66 log<sub>10</sub> ufc g<sup>-1</sup> con la norma NOM-092-SSA1-1994c, en quesos elaborados con leche pasteurizada (tratamiento Q<sub>5</sub>, Tabla 2), superaron los límites microbiológicos establecidos por la NOM.

Tabla 2. Presencia de bacterias coliformes fecales y *E. coli* en queso crema tropical (NOM-113-SSA1-1194c).

Tratamientos	Coliformes fecales log <sub>10</sub> ufc g <sup>-1</sup>	<i>E. coli</i> ufc g <sup>-1</sup>
Q <sub>1</sub>	7.44 a	+
Q <sub>2</sub>	7.53 a	+
Q <sub>3</sub>	7.65 a b	+
Q <sub>4</sub>	7.14 b c	+
Q <sub>5</sub>	6.66 c	+

valores con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey  $\alpha = 0.05$

Los valores de BCF del tratamiento Q<sub>5</sub> fueron similares a los encontrados en los quesos que provenían de la quesería Q<sub>4</sub> de (7.14 log<sub>10</sub> ufc g<sup>-1</sup>) que elabora quesos con leche sin pasteurizar. Estos resultados fueron mayores a los indicados por Cristóbal y Maurtua (2003) para quesos frescos, que muestran un valor de 9.33×10<sup>2</sup> NMP g<sup>-1</sup> de BCF. De igual manera, Dogan-Halkman y col. (2003), señalan que el número de BCF en quesos frescos fue de 0.246 log<sub>10</sub> NMP g<sup>-1</sup>, que son inferiores a los encontrados en el queso crema tropical.

El sistema de pasteurización en el tratamiento Q<sub>5</sub> fue abierto y artesanal y no existió un control estricto de la temperatura durante la pasteurización, aunque la pasteurización fuera eficiente y eliminara las BCF, existe un problema de contaminación postpasteurización durante el desuerado, debido a que se utiliza una manta no estéril. Los operarios manejaron la cuajada manualmente durante el amasado, esto implicó otra fuente de contaminación. Durante el amasado se adicionó cloruro de sodio (NaCl) 6% en el caso del tratamiento Q<sub>5</sub>, el resto de las queserías aplicaron de 2 a 4% de sal, que se considera bajo (Simal y col., 2001) en este último caso (Tabla 10). Para el moldeado en el tratamiento

Tabla 10. Composición fisicoquímica y microbiológica del queso crema tropical en cinco queserías (Q) de Tonalá Chiapas.

	Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>	Q <sub>5</sub>
actividad acuosa (A <sub>w</sub> )	0.94 ± 0.001	0.97 ± 0.002	0.96 ± 0.001	0.97 ± 0.03	0.97 ± 0.03
pH	4.57 ± 0.13	4.74 ± 0.05	4.50 ± 0.08	4.35 ± 0.03	4.64 ± 0.09
% ácido láctico acidez titulable	0.56 ± 0.09	0.26 ± 0.06	0.35 ± 0.09	0.44 ± 0.05	0.643 ± 0.11
% humedad	56.22 ± 0.43	57.53 ± 0.33	59.44 ± 0.20	54.49 ± 0.32	52.58 ± 0.20
% grasa	20.82 ± 2.85	21.9 ± 2.55	21.18 ± 2.93	33.40 ± 1.26	28.27 ± 1.14
% proteína	33.81 ± 2.34	34.43 ± 1.82	34.75 ± 2.03	36.30 ± 5.65	38.74 ± 3.06
% calcio	0.18 ± 0.007	0.11 ± 0.006	0.11 ± 0.004	0.21 ± 0.009	0.27 ± 0.01
% NaCl	3.79 ± 0.52	3.37 ± 0.35	2.0 ± 0.30	4.09 ± 0.53	6.66 ± 0.69
% cenizas	4.96 ± 0.60	5.10 ± 0.42	5.26 ± 0.36	5.52 ± 0.24	8.11 ± 0.58
BMA (log <sub>10</sub> ufc g <sup>-1</sup> )	7.22 ± 6.70	7.26 ± 6.71	7.20 ± 6.66	7.04 ± 6.56	5.82 ± 5.52
BCF (log <sub>10</sub> ufc g <sup>-1</sup> )	7.44 ± 7.43	7.53 ± 7.48	7.65 ± 7.59	7.14 ± 7.28	6.66 ± 6.73

Medias y desviaciones estándar

Q<sub>5</sub>, utilizan moldes de madera en forma rectangular y el empaque es similar a las demás queserías. En estas operaciones se produjo contaminación por bacterias fecales. Algunas bacterias coliformes, *E. coli* en particular, no son halotolerantes, sin embargo, la cantidad de cloruro de sodio presente en todos los quesos, sería suficiente para inhibir este tipo de bacterias, ya que se recomiendan concentraciones de 2.8% de cloruro de sodio (NaCl) (Simal y col., 2001). Con excepción del tratamiento Q<sub>3</sub>, en todas las queserías aplicaron más del 2.8% de cloruro de calcio (NaCl) en los quesos (Tabla 10), lo cual sería suficiente para inhibir BCF, sin embargo, estos resultados mostraron alta incidencia de BCF. Durante el salado, se presenta un proceso de deshidratación natural de los quesos, donde la pérdida de humedad es más lenta, favoreciendo la sobrevivencia de estas bacterias por más tiempo, la evidencia es la presencia de *E. coli* en todos los quesos en este estudio (Tabla 2). El contenido de humedad en los quesos estuvo entre 52 y 60%, después de 48 a 72 horas de elaborados (Tabla 10). Para explicar este fenómeno, Simal y col. (2001) refieren que en un proceso de deshidratación natural, la pérdida de humedad se da en la superficie del queso, como resultado de la diferencia entre la presión de vapor del agua del producto y la presión de vapor de la humedad del aire, paralelamente a la pérdida de agua superficial, se da un movimiento de la humedad del interior del queso hacia el exterior de la masa del producto y que es proporcional a la pérdida de agua superficial.

### 3.2. Detección de *Salmonella spp.* en queso crema tropical

De los cinco tratamientos analizados, solo se detectó *Salmonella* en quesos provenientes del tratamiento Q<sub>3</sub> (Tabla 3), correspondiente al tercer muestreo en marzo, donde las temperaturas son superiores a 37 °C o más en la región, favoreciendo el desarrollo de microorganismos contaminantes. Adicionalmente, aunque los quesos se mantengan a temperaturas de refrigeración (4 °C), se ha demostrado que *Salmonella* sobrevive en estas condiciones (D'Aoust, 1997). La actividad de agua en los quesos del tratamiento Q<sub>3</sub>, donde se encontró *Salmonella* fue de 0.962 (Tabla 10), este valor favorece la sobrevivencia de este patógeno, para su inhibición se requieren valores de A<sub>w</sub> inferiores a 0.93 en los quesos (D'Aoust, 1997). La muestra de queso crema tropical Q<sub>3</sub> presentó en promedio 2.0% de cloruro de sodio (NaCl) (Tabla 10), que es bajo para esta clase de quesos y que favoreció la sobrevivencia de *Salmonella*. Se ha demostrado que concentraciones de 3 a 4% de este aditivo inhiben a este patógeno (D'Aoust, 1997; Villegas, 2004).

Tabla 3 Detección de *Salmonella spp.* en queso crema tropical por establecimientos (NOM- 114-SSA1-1994d).

Tratamientos	<i>Salmonella spp.</i> ufc g <sup>-1</sup>
Q <sub>1</sub>	-
Q <sub>2</sub>	-
Q <sub>3</sub>	+
Q <sub>4</sub>	-
Q <sub>5</sub>	-

Tabla 4 Número de bacterias mesófilas aerobias (BMA) en queso crema tropical

Tratamientos	Bacterias mesófilas aerobias log <sub>10</sub> ufc g <sup>-1</sup>
Q <sub>1</sub>	7.22 a
Q <sub>2</sub>	7.26 a
Q <sub>3</sub>	7.20 a
Q <sub>4</sub>	7.23 a
Q <sub>5</sub>	5.82 a

valores con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey  $\alpha = 0.05$

### 3.3. Número de bacterias mesófilas aerobias (BMA) en queso

La norma NOM- 113- SSA1- 1994b, no especifica la determinación de bacterias mesófilas aerobias como microorganismos indicadores en quesos porque incluiría a las bacterias lácticas que son microorganismos deseables y las cuentas serían elevadas debido a la presencia de estas bacterias por lo que no es parámetro para indicar la presencia de patógenos. El análisis de varianza (ANOVA), no mostró diferencias significativas ( $\alpha = 0.05$ ) entre los cinco tratamientos, en cuanto al número de BMA (Tabla 4). En un estudio semejante, el número de BMA, fue de  $7.8 \times 10^8$  ufc g<sup>-1</sup> en queso fresco (Genigeorgis, 1991a). Además, en otros quesos frescos, se encontró que la población de BMA fue de  $8.9 \times 10^6$  ufc g<sup>-1</sup>, con un pH de 6.45 y sin el uso de cultivos iniciadores (Genigeorgis, 1991b; Manuchehr y Genigeorgis, 1994). Estos autores han relacionado el alto número de BMA en los quesos frescos con deficiencias de higiene en los procesos de elaboración, como fue el caso de los quesos estudiados en la zona de Tonalá, Chiapas y lo ineficiente del proceso de pasteurización del tratamiento Q<sub>5</sub>. La presencia de BMA y *Salmonella*, se incrementa cuando se preparan productos lácteos con leche sin pasteurizar, o bien, cuando el tratamiento térmico de pasteurización es insuficiente (Ratman y col., 1984).

### 3.4. Variables fisicoquímicas de los tratamientos

Se encontraron diferencias significativas ( $\alpha = 0.05$ ) en los quesos crema tropical (Tabla 5), en cuanto a la actividad acuosa (A<sub>w</sub>), pH, acidez titulable (ácido láctico), humedad, calcio y cloruro de sodio (NaCl) (%). Estas diferencias se deben a que ningún productor elabora de la misma forma el queso crema

Tabla 5. Variables fisicoquímicas de los quesos

Variable	A <sub>w</sub>	pH	% ácido láctico	Acidez total	% humedad	Calcio	% NaCl
Tratamientos Medias							
Q <sub>5</sub>	0.97 a	4.64 b	0.64 a		52.58 e	0.27 a	6.66 a
Q <sub>4</sub>	0.97 a	4.35 d	0.44 b		54.49 d	0.21 b	4.09 b
Q <sub>2</sub>	0.97 a	4.74 a	0.26 d		57.53 b	0.11 d	3.37 c d
Q <sub>3</sub>	0.96 b	4.5 c	0.35 c		59.44 a	0.11 d	3.13 d
Q <sub>1</sub>	0.95 c	4.66 b	0.46 b		56.66 c	0.16 c	3.74 b c

valores con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes Tukey  $\alpha = 0.05$

Tabla 6. Medias ajustadas de la primera función canónica discriminante (FCD<sub>1</sub>) para las cinco queserías

Tratamientos	FCD <sub>1</sub>
Q <sub>5</sub>	19.36 a
Q <sub>4</sub>	7.53 b
Q <sub>1</sub>	-2.77 c
Q <sub>2</sub>	-8.34 d
Q <sub>3</sub>	-15.78 e

valores con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey  $\alpha = 0.05$

tropical, esto se observó en la información indicada en la etiqueta (Tabla 11), además de la adición de leche en polvo en diferentes concentraciones.

### 3.5. Análisis canónico discriminante de los quesos

El análisis canónico discriminante mostró diferencia significativa ( $\alpha = 0.05$ ) entre las cinco queserías considerando todas las variables fisicoquímicas y microbiológicas. De acuerdo a los datos que se presentan en la Tabla 6, se observó que los quesos de cada tratamiento presentaron características diferentes de acuerdo a las variables antes mencionadas.

Con este análisis se demostró que los establecimientos muestreados en la zona de Tonalá, no tenían estandarizados sus procesos de elaboración de queso crema tropical. El porcentaje

de variación en las características de los quesos fue de 80.27% y estuvo determinado principalmente por el tratamiento Q<sub>5</sub>, cuyos quesos mostraron menor % humedad con un coeficiente canónico estandarizado CCE = -6.59, con una  $r^2 = -0.98$  y alto contenido de calcio CCE = 4.94,  $r^2 = -0.96$ . Se considera que el calcio provoca un engrosamiento de las micelas en el queso, que se traduce en una mayor concentración de este ión (Veisseyre, 1988).

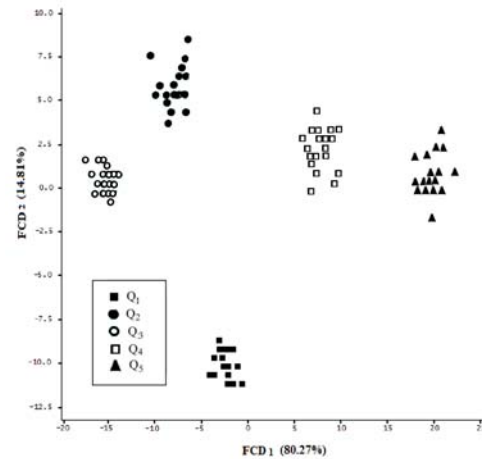


Fig. 1. Representación de los establecimientos en función (FCD<sub>1</sub> y FCD<sub>2</sub>).

Tabla 7. Coeficientes canónicos estandarizados (CCE) y coeficientes de correlación entre las funciones canónicas discriminantes (FCD<sub>1</sub>, FCD<sub>2</sub>) para las cinco queserías.

Variables	FCD <sub>1</sub>		FCD <sub>2</sub>	
	CCE	r <sup>2</sup>	CCE	r <sup>2</sup>
Actividad acuosa (a <sub>w</sub> )	1.04	0.36	<b>5.09</b>	<b>0.92</b>
pH	0.55	-0.06	0.10	0.12
Acidez	-0.10	0.65	-0.45	-0.50
Humedad	<b>-6.59</b>	<b>-0.98</b>	-0.45	0.04
Grasa	0.29	0.67	0.05	0.30
Proteína	-0.40	0.41	0.18	0.15
Calcio	<b>4.94</b>	<b>0.96</b>	<b>-2.19</b>	<b>-0.15</b>
NaCl	0.74	0.85	-0.51	0
Cenizas	0.06	0.76	0.37	0.15
Cuenta total	-0.06	-0.76	-0.28	-0.09
Coliformes fecales	-0.09	-0.47	0.15	0
Tipo <i>E.coli</i>	0.33	0.11	0	-0.18
<i>Salmonella</i>	0.09	-0.12	0	0.01
<b>% Varianza explicada</b>	<b>80.27</b>		<b>14.81</b>	

En contraste, los quesos del tratamiento Q<sub>3</sub>, presentaron mayor actividad acuosa con =5.09 y baja concentración de calcio con = - 2.19 (Tabla 8).

Los quesos de los tratamientos Q<sub>3</sub>, Q<sub>4</sub> y Q<sub>5</sub>, fueron similares en cuanto al contenido de % humedad, en cambio, los tratamientos Q<sub>1</sub> y Q<sub>2</sub> fueron contrastantes con respecto a esta misma variable (Fig. 1). La segunda función canónica discriminante (FCD<sub>2</sub>), presentó un porcentaje de variación del 14.81%, y las variables fisicoquímicas que fueron similares en los quesos son: elevada actividad acuosa (A<sub>w</sub>), con un CCE =5.09 y r<sup>2</sup> = 0.92, menor contenido en calcio con un CCE =- 2.19 y su correspondiente r<sup>2</sup> = -0.15 (Tabla 7) y el tratamiento que mejor representó a esta función fue Q<sub>3</sub> (Fig. 1). Cuando se elaboran quesos con leche no pasteurizada, como es el caso del queso crema tropical del tratamiento Q<sub>3</sub>, donde el nivel de calcio fue bajo, la cuajada es mixta, formándose un gel láctico donde el pH isoeléctrico desciende hasta 4.6. Esto provoca que se modifique la estructura de las caseínas y sea lixiviado el calcio y el fosfato coloidal en el suero, obteniendo un queso altamente desmineralizado (Veisseyre, 1988). Por otro lado, Park (1991) menciona que valores altos en actividad

acuosa y % de humedad favorecen el desarrollo de microorganismos.

### 3.6. Análisis canónico discriminante según fechas de muestreo

Los quesos presentaron diferentes características microbiológicas, según las diferentes épocas de muestreo ( $\alpha = 0.05$ ), (Tabla 8). Los quesos elaborados en enero y febrero, se caracterizaron por contener bajo número de BCF g<sup>-1</sup> (Fig. 2) y la FCD<sub>1</sub> para estas fechas de muestreo, el porcentaje de variación fue de 86.54%, donde destacó el número de BCF con un valor de CCE =2.22 y un r<sup>2</sup> =0.83 (Tabla 9).

Tabla 8. Medias ajustadas de la primera función canónica discriminante (FCD) para los cuatro muestreos en 2007.

Muestreos	FCD <sub>1</sub>
Marzo	1.86 a
Abril	1.70 a
Febrero	-1.70 b
Enero	-1.87 b

valores con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey  $\alpha = 0.05$

Tabla 9. Coeficientes canónicos estandarizados (CCE) y coeficientes de correlación entre las funciones canónicas discriminantes (FCD<sub>1</sub>, FCD<sub>2</sub>) para los cuatro muestreos (Enero, Febrero, Marzo y Abril de 2007).

Variables	FCD <sub>1</sub>		FCD <sub>2</sub>	
	CCE	r <sup>2</sup>	CCE	r <sup>2</sup>
Actividad acuosa (A <sub>w</sub> )	0.20	0	-0.25	0
<b>pH</b>	0.22	0.02	<b>1.31</b>	<b>0.55</b>
Acidez	0.05	0.04	0.71	0.12
Humedad	-0.31	-0.01	1.09	0.03
Grasa	-0.07	-0.13	1.37	0
Proteína	0.26	0.12	0.43	0.25
Calcio	1.37	0.04	-0.03	-0.01
NaCl	-0.70	0	0.63	0
Cenizas	0.32	0	-1.13	-0.07
Cuenta total	0.45	0.15	-0.27	0.04
<b>Coliformes fecales</b>	<b>2.22</b>	<b>0.83</b>	0.17	-0.08
Tipo <i>E.coli</i>	-0.15	-0.07	0.20	-0.13
<i>Salmonella</i>	0.03	-0.10	0.43	0.22
<b>% Varianza explicada</b>	<b>86.54</b>		<b>9.67</b>	

Tabla 11. Características que se reportan en la etiqueta del queso crema tropical en cinco queserías (Q) de Tonalá Chiapas.

	Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>	Q <sub>5</sub>
Leche	Entera de Vaca	Entera de Vaca	Entera de Vaca	Entera de Vaca	Entera de Vaca
Pasteurización	NO	NO	NO	NO	SI
% humedad	40	50.44	45.2	37.7	NO Reporta
% grasa	29	36.11	33.9	37.7	NO Reporta
% proteína	26	9.40	19.3	24.4	NO Reporta
% NaCl	NO Reporta	NO Reporta	NO Reporta	NO Reporta	NO Reporta

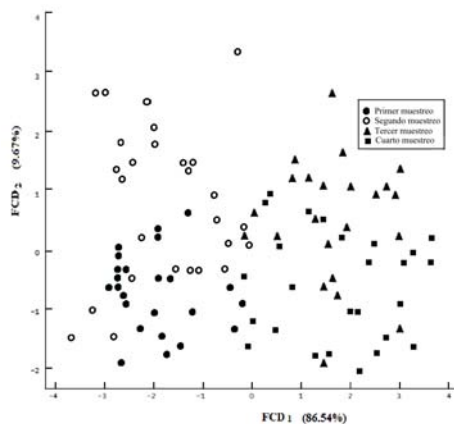


Fig. 2. Representación de las funciones canónicas discriminantes en las fechas de muestreo (FCD<sub>1</sub> y FCD<sub>2</sub>).

### Conclusiones

De 100 muestras de queso crema tropical, el 100% presentó alto número de bacterias coliformes fecales (BCF) indicadores de la presencia de patógenos, que fluctuaron entre 6.66 y 7.65 log<sub>10</sub> ufc g<sup>-1</sup>, superando ampliamente los estándares microbiológicos de la Norma Mexicana NOM- 113-SSA1- 1994c, estableciéndose diferencias significativas entre los tratamientos ( $\alpha = 0.05$ ), para el número de bacterias mesófilas aerobias (BMA) no se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos. Adicionalmente, *E. coli* estuvo presente en todos los tratamientos y *Salmonella spp.* se detectó en el 1% de los quesos que correspondió al tratamiento Q<sub>3</sub> (quesería que elabora quesos con leche sin pasteurizar). La presencia de estas bacterias en los quesos, indica malas prácticas de higiene en su elaboración en todos los tratamientos. Además, esto demuestra la ineficiencia del proceso de pasteurización en el tratamiento Q<sub>5</sub> o una recontaminación postpasteurización y el incumplimiento de la Norma Oficial Mexicana, NOM- 120- SSA1- 1994e en los establecimientos muestreados.

El análisis canónico discriminante (ACD), mostró que los quesos crema tropical presentaron diferencias en sus características microbiológicas y fisicoquímicas, en función de las distintas fechas de muestreo. Siendo las variables microbiológicas las más importantes (BCF y BMA g<sup>-1</sup>). Además, las variables fisicoquímicas; humedad y A<sub>w</sub> tuvieron una marcada influencia sobre la población de BCF y patógenos como *Salmonella spp.* en los quesos.

### Referencias

AOAC, (1998). Association of Oficial Analytical Chemists. Official methods of analysis, 16<sup>th</sup>. (Ed.) Gaithersburg, Maryland, U.S.A, vol. 1, Chapter 33, pp 10.

Cristóbal-Delgado, R. L. y Maurtua-Torres, D. J. (2003). Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus spp.* *Revista Panamericana de Salud Pública* 14,158-163.

D' Aoust Y. (1997). *Salmonella* species. In *Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers*. Edited by Michael P. Doyle, Larry R. Beuchat T. J. Montville. ASM Press. Washington, D.C. 129 -158.

Díaz, C. M. (2007). Operación Sanitaria. Comisión Federal de Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS). Disponible en: <http://www.cofepris.gob.mx>.

Dogan-Halkman, Hilial B., Kadir, Ibrahim, Keven, Fikret, Worobo, W., Randy, Halkman y A. Kadir. (2003). Relationship among fecal coliforms and *Escherichia coli* in various foods. *European Food Research and Technology* 216, 331-334.

Espinosa-Solares, T., Cruz-Castillo, J. G., Montesinos-López, O. A. y Hernández-Montes, A. (2005). Raw coffee processing yield affected more by cultivar than by harvest date. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico* 89, 169-178.

Farkye, Y. N. (2002). Microbiology of soft cheese, in: (*Dairy Microbiology Handbook 3<sup>th</sup>*, Richard K. Robinson). Inc. New York, USA, 479 – 513.

Genigeorgis, C., Toledo, J.H. y Garizabal F.J. (1991a). Selected and chemical characteristics of illegally produced and manufactured sofã Hispanic style cheeses in California. *Journal of Food Protection* 54, 598-601.

Genigeorgis, C., Carniciu, M., Dutulescu D. y Farber, T.B. (1991b). Growth and survival of *Listeria monocytogenes* in marketed cheese stored at 4 to 30 °C. *Journal of Food Protection* 54, 662-668.

Gutiérrez-Cogco, L., Montiel-Vázquez, E., Aguilera-Pérez P., González-Andrade Ma. C. (2000). Serotipos de *Salmonella* identificados en los servicios de salud de México. *Revista de Salud Pública de México* 42 (6), 490-495

Instituto de Diagnostico y Referencia Epidemiológica (INDRE). (2001). Informe anual de los países participantes en la red de monitoreo y vigilancia de la resistencia a los antibióticos. Disponible en: [www.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/amr-santa cruz-mex.pdf](http://www.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/amr-santa cruz-mex.pdf)

Instituto Nacional de Estadística Geografía e Historia (INEGI). (2002). Daños a la Salud. Boletín de Información Estadística II. 20 y 22. México, D.F.

Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal (2005). Enciclopedia de los Municipios de México, Estado de



- Chiapas. Gobierno del Estado de Chiapas. Disponible en: <http://www.e-local.gob.mx>
- Kirk, S. R., Sawyer, R., Egan H. (2002). *Composición y análisis de alimentos*, CECSA, México, 661- 662.
- Manuchehr, K. y Genigeorgis, C. (1994). Potential growth and control of *Salmonella* in Hispanic type soft cheese. *International Journal of Food Microbiology* 22, 127-140
- Park, Y. W. (1991). Moisture and sodium levels in commercial goat cheeses compared with cow cheeses. *Small Ruminant Research* 5, 141-148.
- Ratman, S., Marsh, S.B., Butler, R.W. (1984). A major outbreak of salmonellosis in Newfoundland traced to contaminated cheese: Laboratory aspects. Abstract. *Conjoint Meeting on Infections Diseases PE 13*. Can. Assoc. Clin. Mic. Inf. D.S.
- SAS (V8, 2004, SAS Inst., Inc., Cary, NC, USA).
- Secretaría de Salud. (1994a). Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana, NOM-121-SSA1-1994, Bienes y servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias.
- Secretaría de Salud. (1994b). Norma Oficial Mexicana, NOM- 092- SSA1- 1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias mesófilas en placa.
- Secretaría de Salud. (1994c). Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana, NOM-113- SSA1- 1994, Bienes y servicios, Determinación de bacterias coliformes en placa.
- Secretaría de Salud. (1994d). Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana, NOM-114-SSA1- 1994, Bienes y servicios, Método para la determinación de salmonella en alimentos.
- Secretaría de Salud. (1994e). Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana, NOM-120-SSA1 (1994). Bienes y servicios, Prácticas de higiene y sanidad para el proceso de alimentos, bebidas no alcohólicas y alcohólicas.
- Simal, S., Sánchez, E.S., Bon, J., Femenia, A., Rosello, C. (2001). Water and salt diffusion during cheese ripening: effect the external and interno resistents to mass transfer. *Journal of food Engineering* 48, 269-275.
- Urquilla, A. (2005). Reported de Intelligence Competitive, FDA, In: Issues Health Advisory About Certain Soft Cheese Made From Raw Milk. 14. Disponible en: <http://www.conamype.gob.sv/noticias/290605.pdf#search='Urquilla%2C%20A.%202005'>
- Veisseyre, R. (1988). *Lactología técnica*. Acribia, Zaragoza, España, 376-440.
- Villegas de G. A. (2004). *Tecnología quesera*, Trillas, México. 147-148.