



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

---

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS TABASCO

MAESTRÍA TECNOLÓGICA EN PRODUCTOS LÁCTEOS

**POTENCIAL PROBIÓTICO DE BACTERIAS LÁCTICAS DE QUESO DE PORO  
ARTESANAL DE BALANCÁN, TABASCO, MÉXICO**

**BLANCA ROSA RECINO METELIN**

**T E S I N A**

PRESENTADA COMO REQUISITO  
PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRÍA TECNOLÓGICA**

H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO

2015

La presente tesina, titulada **Potencial probiótico de bacterias lácticas aisladas de queso de poro artesanal de Balancán, Tabasco, México**, realizada por el alumno **Blanca Rosa Recino Metelin**, bajo la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRÍA TECNOLÓGICA

EN PRODUCTOS LÁCTEOS

CONSEJO PARTICULAR



CONSEJERO:

DR. ADOLFO BUCIO GALINDO

ASESOR:



DR. ROMÁN JIMÉNEZ VERA

ASESOR:



MC. MATEO ORTIZ HERNÁNDEZ

H. Cárdenas, Tabasco, México, 27 de noviembre de 2015

# **POTENCIAL PROBIÓTICO DE BACTERIAS LÁCTICAS DE QUESO DE PORO ARTESANAL DE BALANCÁN, TABASCO, MÉXICO**

**Blanca Rosa Recino Metelin, M.T.**

**Colegio de Postgraduados, 2015**

El queso de poro es un producto regional elaborado en la subregión Ríos, en Tabasco, México. Se ha incrementado la producción y consumo de alimentos adicionados con probióticos debido a la importancia que han adquirido estos microorganismos en la conservación de la salud. Sin embargo, pocos estudios se han enfocado en resaltar las propiedades funcionales de los alimentos artesanales. El objetivo de este trabajo fue aislar bacterias ácido lácticas del queso de poro y evaluar sus propiedades probióticas. La finalidad del estudio es clasificar, a futuro, al queso de poro como un alimento funcional. Se analizaron 30 muestras de 250 g, aproximadamente, con 12 días de maduración a temperatura ambiente. Se analizaron 10 g de cada muestra obtenida de diferentes secciones. Se cuantificó la concentración de bacterias ácido lácticas, pH, acidez. Se aislaron bacterias ácido lácticas y se evaluaron sus propiedades probióticas, como resistencia a pH y actividad antagonista. La concentración de bacterias ácido lácticas fue cuantificada empleando dos medios de cultivo: MRS y M17. Se obtuvo una concentración similar en ambos medios de cultivo. Se aislaron dos bacterias ácido lácticas con el medio MRS, capaces de resistir una concentración de pH 2.0 durante tres horas, con la capacidad de inhibir las bacterias patógenas *Salmonella* sp y *Escherichia coli*. Se cuenta con otras ocho cepas capaces de inhibir a uno de los dos patógenos evaluados y además, con 14 cepas aun no probadas contra otros patógenos, resistentes a pH 2.0. La concentración de ácido láctico fue similar a la encontrada en quesos adicionados con bacterias probióticas. Estas características de acidez permiten el desarrollo de bacterias ácido lácticas con propiedades probióticas, así como la conservación del queso a temperatura ambiente. Estos resultados aportan evidencias para establecer la presencia de bacterias con propiedades probióticas en el queso de poro. Sin embargo, aún es necesario realizar pruebas adicionales para caracterizar las cepas con potencial probiótico del queso de poro.

Palabras claves: queso de poro, Balancán, alimento funcional, probióticos.

**PROBIOTIC POTENTIAL OF LACTIC BACTERIAS OF CHEESE PORO  
ARTISANAL FROM BALANCÁN, TABASCO, MEXICO.**

**Blanca Rosa Recino Metelin, M.T.**

**Colegio de Postgraduados, 2015**

The pore cheese is a regional product manufactured in Rivers subregion, Tabasco, Mexico. It has increased production and consumption of probiotic-added due to the importance acquired these microorganisms in the preservation of health foods. However, few studies have focused on highlighting the functional properties of artisanal foods. The aim of this work was to isolate lactic acid bacteria and cheese pore evaluate their probiotic properties. The purpose of the study is to classify, future, cheese pore as a functional food. 30 samples of 250 g were analyzed approximately 12 days of aging at room temperature. 10 g of each sample obtained from different sections. The concentration of lactic acid bacteria, pH, acidity was quantified. Lactic acid bacteria were isolated and their probiotic properties were evaluated as resistance to pH and antagonistic activity. The concentration of lactic acid bacteria was quantified using two culture media: MRS and M17. A similar concentration in both culture media was obtained. Two lactic acid bacteria were isolated in MRS medium, able to withstand a concentration of pH 2.0 for three hours, with the ability to inhibit pathogenic bacteria *Escherichia coli* and *Salmonella* sp. It has eight other strains capable of inhibiting one of the two pathogens tested and further, with 14 strains unproven even against other pathogens resistant to pH 2.0. The lactic acid concentration was similar to that found in cheeses with added probiotic bacteria. These features allow the development of acidity of lactic acid bacteria with probiotic properties and conservation cheese at room temperature. These results provide evidence to establish the presence of bacteria with probiotic properties in cheese pore. However, it is still necessary to perform additional tests to characterize strains with potential probiotic cheese pore.

Keywords: pore cheese, Balancán, functional food, probiotic.

## **DEDICATORIA**

### **A Dios.**

Por permitirme realizar esta investigación, por la fortaleza que me cada día, y acompañarme siempre.

### **A mis padres.**

Por haberme educado, gracias por cultivar e inculcar ese sabio don de la responsabilidad.

### **A mi esposo.**

Porque he contado con él para concluir este nuevo logro, gracias por la confianza y apoyo.

## AGRADECIMIENTOS

A la **Sociedad Quesos de Poro Genuino de Balancán, Tabasco S.P.R. de R.L. de C.V.**, por haber gestionado la realización de la Maestría.

Al **Colegio de Posgraduados Campus Tabasco** por permitirme realizar mis estudios, al personal directivo, académico y administrativo por su trato, consideraciones y apoyo para mi persona.

A mi **Consejo particular el Dr. Adolfo Bucio Galindo, Dr. Román Jiménez Vera y Mateo Ortiz Hernández** por esfuerzo y dedicación, el tiempo y el apoyo incondicional que me han brindaron.

A mis **compañeros de Maestría** que de cierta manera estuvieron cerca y apoyando con sus valiosos comentarios para llevar a buen término la maestría.

A todos los compañeros y conocidos que de una u otra forma me apoyaron.

<b>CONTENIDO</b>	<b>Página</b>
1 INTRODUCCIÓN .....	1
2 OBJETIVOS .....	3
2.1 Objetivo general .....	3
2.2 Objetivos específicos .....	3
2.3 Hipótesis .....	3
3 REVISIÓN DE LITERATURA .....	4
3.1 Quesos .....	4
3.1.1 Quesos artesanales .....	5
3.1.2 Quesos artesanales mexicanos .....	9
3.1.3 Quesos artesanales de otros países .....	11
3.2 Queso de poro .....	12
3.3 Maduración de quesos .....	16
3.4 Bacterias lácticas .....	18
3.4.1 Cultivos lácticos iniciadores en quesos .....	19
3.5 Probióticos .....	23
3.5.1 Beneficios .....	25
3.5.2 Propiedades .....	29
3.6 Probióticos en quesos .....	31
3.6.1 Adición de probióticos .....	32
3.6.2 Probióticos nativos .....	38
4 MATERIALES Y MÉTODOS .....	44
4.1 Área de estudio .....	44
4.2 Plan de muestreo .....	44
4.3 Cuantificación de bacterias lácticas .....	45
4.4 Aislamiento e identificación de bacterias lácticas .....	46
4.5 Evaluación probiótica .....	46

4.6 Análisis físicos .....	47
5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	48
5.1 Cuantificación de bacterias ácido lácticas .....	48
5.2 Aislamiento de cepas.....	52
5.3 Caracterización probiótica .....	53
5.4 Acidez y pH .....	58
6 CONCLUSIONES .....	62
7 RECOMENDACIONES .....	63
8 LITERATURA CITADA.....	64
9 ANEXO .....	77
9.1 Anexo 1. Participación en evento científico internacional. ....	77



## LISTA DE CUADROS

Página

Cuadro 1 Composición proximal y fisicoquímica del queso de poro. ....	13
Cuadro 2 Descriptores finales de queso de poro por categoría. ....	14
Cuadro 3 Microorganismos registrados en el queso de poro durante el almacenamiento. ....	15
Cuadro 4 Información básica sobre los medios de cultivos utilizados. ....	45
Cuadro 5 Concentración de bacterias ácido lácticas, acidez y pH en queso de poro. ....	49
Cuadro 6 Concentración de bacterias ácido lácticas en diferentes quesos. ....	51
Cuadro 7 Resistencia de cepas ácido lácticas de queso de poro a pH 2 por 3 h. ....	54
Cuadro 8 Antagonismo de cepas de ácido lácticas contra <i>Salmonella</i> sp. y <i>E. coli</i> . ....	56
Cuadro 9 Microorganismos indicadores en queso de poro a tiempo cero y 7 días de maduración. .....	58
Cuadro 10 Variables físicas y microbiológicas analizadas en el queso de poro. ....	59
Cuadro 11 Comparación de la acidez del queso de poro con otros quesos. ....	60

## LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1 Inhibición de *Escherichia coli* por cepa 47-MRS aislada del queso de poro. ....57

Figura 2 contenido de acidez en queso de poro durante la maduración de 7 días. ....59

## 1 INTRODUCCIÓN

El queso de poro es un producto artesanal que se elabora en la subregión Ríos en el estado de Tabasco, principalmente en los municipios de Balancán y Tenosique. Es un queso fresco, ligeramente maduro, de pasta blanda y prensada, elaborado con leche cruda de vaca entera. Se presenta al mercado en piezas pequeñas, con un peso que oscila entre 150 g y 300 g. Las piezas vienen parafinadas y envueltas en papel celofán amarillo, bajo el cual luce su etiqueta (Cervantes *et al.*, 2006).

Los quesos artesanales, son una fuente de bacterias lácticas para ser utilizadas como cultivos iniciadores, los cuales consisten en cepas de una o varias especies bacterianas cuya función principal es la de producir ácido láctico a partir de lactosa, regulando el sabor y la textura (Izquierdo *et al.*, 2003).

Alvarado *et al.* (2007) realizaron el aislamiento, identificación y caracterización de bacterias ácido lácticas de un queso venezolano ahumado andino artesanal para utilizarlas como cultivo iniciador. Ramos-Izquierdo *et al.* (2009) aislaron, identificaron y caracterizaron 20 cepas de bacterias ácido lácticas de un “queso crema tropical” tradicionalmente fabricado con leche bronca.

También Delgado *et al.* (2009) caracterizaron bacterias lácticas aisladas de queso Chihuahua para ser empleadas como cultivos iniciadores en la elaboración de quesos, ya que son las responsables de las características de sabor y aroma, González (2013) evaluaron la actividad enzimática de cepas de bacterias lácticas aisladas del queso genestoso y diseñaron un cultivo iniciador autóctono para su uso en la fabricación industrial de quesos con características artesanales.

Para el queso de poro, sólo se han realizado estudios de análisis fisicoquímicos y calidad microbiológica. Pérez (2012) evaluó la actividad de agua, el contenido de sal, la acidez y calidad microbiológica de este queso, encontrando la presencia de bacterias patógenas al inicio de la maduración; sin embargo, al final, la concentración había disminuido.

Los probióticos son microorganismos que no poseen patogenicidad, los cuales al ser ingeridos tienen efectos benéficos en la salud de la persona, así como la capacidad de prevenir ciertas condiciones patológicas (Álvarez, 2010). Debido a la importancia que han adquirido los

microorganismos probióticos en la conservación de la salud, se ha incrementado la producción y consumo de alimentos adicionados con estos microorganismos.

En el sector quesero, la formulación de alimentos funcionales con probióticos se ha enfocado en el diseño de quesos adicionados con probióticos. Obando *et al.* (2010) evaluaron la viabilidad de tres microorganismos probióticos en queso cottage, los cuales permanecen viables y en número superior a  $10^6$  UFC/g durante la vida útil (14 días) del producto mantenido en refrigeración (4°C), Sepúlveda *et al.* (2010) desarrollaron dos quesos frescos adicionados con un cultivo probiótico, Vinderola *et al.* (2008) diseñaron un queso blando con el objetivo de utilizarlo como vehículo de bacterias probióticas, Boza *et al.* (2010) elaboraron un queso madurado inoculado con *Lactobacillus paracasei* subesp. Paracasei cumpliendo este con los estándares establecidos para los alimentos funcionales probióticos en cuanto número de unidades formadoras de colonias.

Acosta (2009) evaluó la presencia de bacterias lácticas y microorganismos indicadores, y encontró que la concentración de bacterias lácticas fue similar a la de los quesos adicionados con bacterias probióticas. Sin embargo, han sido pocos los estudios enfocados a resaltar las propiedades funcionales de los alimentos artesanales. El queso de poro se elabora con leche no pasteurizada y como cultivo iniciador se utiliza el suero obtenido de la producción del día anterior. Al ser un producto artesanal con un proceso de maduración de entre 12 y 14 días y, con bacterias lácticas presentes en su flora, es probable que alguna de las bacterias ácido lácticas cuente con alguna actividad probiótica.

Además, Navarrete (2007) evaluó la maduración de queso gouda reducido en grasa con aplicación de un cultivo probiótico, encontrándolo como alimento funcional, Fernández y Rodríguez (2005) adicionaron a queso de cabra una mezcla de microorganismos probióticos con la intención de mejorar sus características nutritivas, logrando su tener un queso funcional, Gutiérrez *et al.* (2007) evaluaron la viabilidad de una bacteria ácido láctica nativa con actividad probiótica en un queso crema, siendo esta viable y cumpliendo con los requisitos de viabilidad los cuales tiene que ser mayor a  $10^6$  y Suárez-Solís *et al.* (2008) elaboraron un queso tipo crema de leche de búfala, enriquecido con microorganismos probióticos siendo un queso con buena viabilidad.

Del planteamiento anterior surge la pregunta de investigación ¿Existen bacterias ácido lácticas con actividad probiótica en la flora nativa del queso de poro? Con este trabajo se evaluará la presencia de bacterias ácido lácticas con actividad probiótica en la flora nativa del queso de poro. Estos resultados permitirán a los productores utilizar bacterias probióticas como cultivos iniciadores para mejorar las características del producto e incidir en la salud de los consumidores. También se contribuirá a clasificar al queso de poro como un alimento funcional debido a la presencia de bacterias con actividad funcional.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo general**

- Identificar bacterias ácido lácticas del queso de poro artesanal madurado con actividad funcional probiótica.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Cuantificar bacterias ácido lácticas del queso de poro con 12 días de maduración.
- Aislar e identificar bacterias ácido lácticas del queso de poro.
- Evaluar propiedades probióticas de las cepas aisladas del queso de poro.
- Cuantificar contenido de ácido láctico como acidez total.

### **2.3 Hipótesis**

El queso de poro artesanal elaborado en Balancán, Tabasco, contiene bacterias ácido lácticas con propiedades probióticas.

### 3 REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1 Quesos

De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, se define a los quesos como productos elaborados de la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras especies animales, con o sin adición de crema, obtenida de la coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas, ácidos orgánicos comestibles 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.

La norma mexicana clasifica a los quesos en frescos, madurados y procesados. Los quesos frescos son aquellos que se caracterizan por ser productos de alto contenido de humedad, sabor suave y no tener corteza, pudiendo o no adicionarle ingredientes opcionales y tener un periodo de vida de anaquel corto, requiriendo condiciones de refrigeración.

Los quesos madurados son alimentos que 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.

Los quesos procesados se caracterizan por ser 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.

El queso es un producto alimenticio básico en la dieta de la mayoría de los países del mundo. Por su elevado aporte nutritivo es considerado indispensable para complementar una adecuada alimentación, ya que posee un alto contenido de compuestos nitrogenados, grasas, calcio, fósforo y vitaminas, entre las cuales se encuentran las vitaminas A, B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>5</sub> y ácido nicotínico. El queso es un derivado lácteo que contiene los principales elementos nutritivos de la leche, y se obtiene

mediante la coagulación de la caseína, su proteína más abundante. Puede ser elaborado a partir de diferentes tipos de leche y mediante diferentes técnicas, según la clase de queso que se desee obtener (Izquierdo *et al.*, 2003).

El queso está compuesto básicamente por agua, grasa, proteínas (exclusivamente caseína/paracaseína), minerales asociados con las proteínas (principalmente fosfatos y citratos de calcio) y sales que están directamente asociadas con las características fisicoquímicas de la leche (Ramírez-Nolla y Vélez-Ruiz, 2012).

### **3.1.1 Quesos artesanales**

El queso no es un alimento originario de México. Fue con la llegada de los españoles que comenzó a producirse en algunas partes del país. Se desarrollaron diferentes tipos de queso dependiendo de los climas, del ganado criado en México y al gusto de los productores. Debido a estas circunstancias, las nuevas variedades de quesos producidos en el país difieren de los quesos típicos de España (Sánchez, 2014).

En México, los quesos artesanales, a base de leche cruda, han sido elaborados durante más de 350 años, hasta que se introdujeron nuevas tecnologías que incluía descremar, pasteurizar, refrigerar y agregar cultivos lácticos seleccionados, para dar paso a los quesos de leche pasteurizada (Villegas, 2004). Sin embargo, en la quesería artesanal, los productos se elaboran con leche sin pasteurizar y con procesos tradicionales. Generalmente, estos quesos son de circulación local o regional, tienen como nichos de mercado a consumidores de esos mismos espacios geográficos (Villegas y Cervantes, 2011).

En el país existen más de 1,300 establecimientos que elaboran productos artesanales como queso, crema y mantequilla. Dentro de estos productos, los más importantes son los quesos y el yogur. La producción de crema, queso (amarillo, Chihuahua, doble crema, fresco, Oaxaca y panela) mantequilla y yogur han mantenido un crecimiento constante. Cabe destacar que la producción local de queso está enfrentando una crisis fuerte por estar en el mercado informal y tiene que competir con productos importados (Torres y Acosta, 2005).

La elaboración de queso constituye una salida económica para pequeños y medianos productores de leche ante la baja rentabilidad de su actividad. La quesería artesanal reviste gran relevancia porque elabora un producto de reconocidas bondades nutricionales y gustativas y por su capacidad para generar y mantener el empleo de un gran número de agentes de la cadena agroindustrial: ganaderos, queseros y comerciantes. Considerando sólo a los estados de Chiapas, Jalisco, Veracruz y Guerrero, se estima en varios miles a los pequeños queseros artesanales (Villegas y Cervantes, 2011).

Los ranchos que elaboran queso artesanal emplean un sistema extensivo de producción, es decir, libre pastoreo, donde las vacas, cabras u ovejas se alimentan con diferentes tipos de pasto, un factor que repercute en el sabor de la leche. Por lo general, esta leche se utiliza sin pasteurizar, para no alterar ni disminuir las propiedades organolépticas de la leche. El productor debe invertir tiempo para lograr el grado de maduración adecuado para cada tipo de queso, lapso que representa una inversión para el rancho. Por último, se añaden el costo de la producción a pequeña escala, la distribución y comercialización (Sánchez, 2014).

Los quesos elaborados en territorio mexicano ahora son típicos de ciertos territorios como el queso cotija, el bola de Ocosingo y el menonita. La distribución y producción de quesos artesanales a pequeña escala impactan en el costo, aunque estos productos cuentan con el beneficio del sabor y el valor nutricional. Sin embargo, en el consumidor el factor precio es el que, en muchas ocasiones, determina la decisión final de compra (Sánchez, 2014).

Al contrario de la industria lechera que tiende a ubicarse en la proximidad de los mayores centros de producción y consumo, la localización de las queserías artesanales responde a una lógica más vinculada a las tradiciones de producción. Por un lado, depende de la dinámica del saber-hacer de los queseros, ya que la quesería es una actividad identificada con el lugar, que se ha desarrollado en muchos casos por ser la única alternativa para conservar y aprovechar los excedentes de leche en zonas aisladas, con un mercado local limitado (Pomeón y Cervantes, 2010).

En Ocosingo, Chiapas, muchos de los queseros producen la totalidad o parte de la leche que requieren. De la misma manera se han localizado ganaderos-queseros en cuencas de producción de lechería familiar o semi-tecnificada, esto desde las colonias menonitas en Chihuahua a



Villaflores, Chiapas, pasando por Lagos de Moreno, Jalisco; Aculco, Estado de México; Tlaxco y Tetlatlahuca; Tlaxcala (Poméon y Cervantes, 2010).

La industria quesera artesanal se puede clasificar en tres estratos, de acuerdo al volumen de leche que se procese diariamente, en pequeña, la que transforma volúmenes menores a 2,000 l/d, mediana, la que procesa entre 2,000 y 20,000 l/d y gran industria, la que maneja volúmenes superiores a 20,000 l/d (Villegas, 2004).

Recientemente ha surgido, primero en el extranjero y ahora en México, una apreciación por lo artesanal y sustentable; sobre todo en las ciudades, donde no es tan sencillo adquirir un producto no industrializado. Los consumidores valoran el esfuerzo y calidad de los quesos artesanales. Han surgido asesores queseros, quienes apoyan a los ranchos en la mejora de sus procedimientos y en la implementación de nuevas variedades y estilos de queso. Se apuesta por la calidad y, de entrada, es un cambio de dirección en la industria quesera en México (Sánchez, 2014).

La realidad de los quesos mexicanos es contrastante frente a la de los europeos. Francia cuenta con 42 quesos con denominación de origen, Italia posee 31, España cuenta con 16 y Suiza con cinco. En Francia, desde abril de 2005 se decretó el Día Nacional del Queso para promover su consumo y supervivencia. En México, no obstante la riqueza quesera, no se tiene un solo caso de denominación de origen, sólo se cuenta con tres marcas colectivas con referencia geográfica para el queso Cotija región de origen, para el queso bola de Ocosingo, Chiapas y para el Queso de poro de Balancán, Tabasco (Villegas y Cervantes, 2011).

En los últimos años, ha surgido una creciente población de clientes que buscan productos de calidad con evocación de lo tradicional y genuino, pero respetando las tradiciones locales y el medio ambiente. La tradición de producción se ha visto reforzada por la integración de los quesos en los usos alimentarios locales, es decir, el establecimiento de una tradición de consumo. Sin embargo, ese proceso de tradición es muy relativo, tanto a nivel espacial como temporal (Poméon y Cervantes, 2010; Villegas y Cervantes, 2011).

Los productos alimenticios artesanales han sido ampliamente estudiados por sus características y potencialidades. Aunque el sabor, la textura, el proceso tradicional y el origen de la leche son

características importantes de los quesos artesanales, una buena calidad del proceso de producción incrementa el valor agregado del producto (Domínguez-López *et al.*, 2010).

La mayoría de los quesos artesanales se elaboran con leche cruda, sin la adición de cepas iniciadoras, por ello en ocasiones pueden presentar problemas de salud. Para promover los quesos artesanales es necesario contar con prácticas de manufactura estandarizadas y conocer las características finales del producto, las cuales se pueden lograr después de una caracterización integral de los perfiles químicos, microbiológicos y sensoriales (Alvarado *et al.*, 2007).

Con el objetivo de analizar los márgenes de comercialización de un queso artesanal bovino elaborado en unidades de producción familiar, Araque *et al.* (2010) realizaron una investigación de campo descriptiva, en la comunidad de Totoremo, municipio Urdaneta, estado Lara, Venezuela. Los resultados muestran que de 22 productores, el 95 % realiza la venta directamente a transportistas. El canal de comercialización más común fue: productor, comprador-transportista, comercio detallista y consumidor final. En la comercialización del queso artesanal el 39% del precio del consumidor se queda en el sistema intermediario y el 61% en el productor.

Sin embargo, no se cuenta con un concepto unificado de lo que se entiende por artesanal. Aunque se tienen disponibles algunas definiciones que hacen referencia a productos comestibles hechos a mano, no toman en cuenta la existencia de regulaciones, con parámetros específicos, que un producto alimenticio debe cumplir para ser comercializado. La Sociedad Americana del Queso propone algunas definiciones para quesos elaborados con conocimiento tradicional (Domínguez-López *et al.*, 2010):

i) *Quesos de especialidad*. Es un queso de producción limitada, al cual se le ha puesto particular atención al sabor natural y al perfil de textura. Éstos pueden ser elaborados a partir de cualquier tipo de leche (vaca, oveja, cabra) y pueden incluir sabores como hierbas, especias, frutas y nueces. Entre las características que ofrecen distinción y valor agregado se encuentra el origen exótico, proceso particular, diseño, abastecimiento limitado, aplicación o uso no común, empaque extraordinario o canal de distribución.

ii) *Quesos artesanales*. La palabra artesano o artesanal implica que un queso es producido principalmente a mano, en lotes pequeños con atención particular al arte tradicional del quesero,

utilizando la menor cantidad posible de procesos mecánicos en la producción del mismo. Estos quesos pueden ser fabricados a partir de todos los tipos de leche y pueden incluir varios sabores.

iii) *Quesos de granja*. Este queso debe ser elaborado con la leche producida por el rebaño del mismo productor y procesado donde los animales fueron alimentados. La leche utilizada en la producción de este queso no puede provenir de ninguna fuente externa. Estos quesos pueden ser fabricados a partir de todos los tipos de leche y pueden incluir varios sabores.

### **3.1.2 Quesos artesanales mexicanos**

Los quesos artesanales mexicanos son producto del terruño, entendiendo por este término no sólo la parte geográfica del territorio donde se elaboran, si no el conocimiento acumulado históricamente en él, y que les da origen. En el estado de Oaxaca, parte de la producción láctea es destinada para la elaboración de quesos de fabricación artesanal. Tal es el caso del queso fresco conocido como “cuajada”, el cual, es elaborado en la región del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca (Hernández-Cervantes *et al.*, 2010).

El queso Oaxaca es otro queso típico mexicano, que tiene una gran demanda a nivel nacional debido a su extenso uso en platillos regionales. Cuenta con dos propiedades muy apreciadas por el consumidor, el hebrado y el fundido, que lo convierten en el segundo queso más consumido en México. Su elaboración requiere de destreza y conocimiento en el control de ciertos puntos críticos como la acidez adecuada en la leche y la cuajada, la determinación del punto de hebra y el amasado, que impactan de manera directa en las características fisicoquímicas, tecnológicas y sensoriales (Ramírez-Nolla y Vélez-Ruiz, 2012).

El queso Oaxaca se define como un queso de cuajada suave y plástica, desmenuzable, de cuerpo firme, color blanco cremoso y sabor suave, ligeramente ácido. La característica principal es su consistencia elástica, ya que la cuajada se puede moldear hasta darle una forma redonda y trenzada. Está clasificado como un queso fresco de pasta cocida, acidificado (NOM-243-SSA1-2010).

Solís *et al.* (2013) describieron las características del queso Tepeque de la Tierra Caliente del estado de Michoacán en términos de su región de origen, proceso de manufactura, características fisicoquímicas y microbiológicas, y documentar los cambios atribuibles a la implementación de

un sistema silvopastoril intensivo para la alimentación del ganado. Se observó que el queso Tepeque es un producto elaborado con leche de buena calidad fisicoquímica, con una historia y tradición que supera los 300 años.

El queso añejo de Zacazonapan es un queso tradicional mexicano producido en el suroeste del Estado de México. El origen de este queso no es conocido, pero se estima que tiene más de cien años de existencia y es un producto muy apreciado en la región. Se elabora con leche cruda de vaca, es madurado, tiene un sabor fuerte, salado, y se distingue por su textura desmoronable; es producido durante todo el año, aunque la producción más fuerte se da durante el verano o época de lluvias por la disponibilidad de pastura natural (Hernández *et al.*, 2011).

El queso crema tropical de Chiapas, si bien no es elaborado a gran escala en ese estado, es un producto distinguido que junto con el queso bola de Ocosingo representa a la quesería tradicional chiapaneca por su historia, arraigo y consumo. Además, muestra gran potencialidad comercial y de desarrollo regional. Este queso genuino, de pasta ácida y tajable, se elabora con leche cruda de ganado de doble propósito, cruce de europeo y cebú, manejado extensivamente (Villegas *et al.*, 2010).

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 (Romero-Castillo *et al.*, 2009).

Rosado-Zarrabal *et al.* (2013) caracterizaron los quesos crema de Chiapas mediante análisis fisicoquímicos para verificar que su cumplimiento con las normas mexicanas. Con este estudio se demostró que los contenidos de grasa, sólidos totales y proteínas son similares en las regiones Costa, Selva y Norte, y que se encuentran dentro de las normas mexicanas oficiales, lo que puede ser un indicativo de que el estado de Chiapas es una zona potencial para la elaboración de quesos con valor nutrimental deseable (Rosado-Zarrabal *et al.*, 2013).

El queso asadero es un queso fresco, típico mexicano de pasta hilada, con alto contenido de proteínas y agua, cuya producción constituye una de las actividades económicas más importantes

de la región Huasteca, al noreste de México. A pequeña escala de producción, la regla general es el empleo de leche cruda y con frecuencia el producto se comercializa sin envase. Para minimizar los riesgos derivados del consumo de este producto, es importante establecer su vida útil (Carrillo-Inungaray y Mondragón-Hernández, 2011).

### 3.1.3 Quesos artesanales de otros países

El queso kashkaval es un queso originario de Macedonia, de la región de Mariovo. El kashkaval es un queso batido en salmuera, blanco y golpeado. Es un producto auténtico que ha sido fabricado tradicionalmente con leche de oveja de pastoreo, posee una consistencia dura y sabor excepcionalmente salado. De acuerdo a sus propiedades puede mantenerse en conservación a condiciones ordinarias. La designación “golpeado” se originó a partir de la etapa de un proceso de la producción, donde se bate la cuajada de queso para asegurar el drenaje adecuado (Sulejmani *et al.*, 2014).

Sulejmani *et al.* (2014) caracterizaron la composición, la proteólisis y perfiles volátiles del queso de oveja golpeado. Reportaron que los intervalos para la composición proximal fueron de 31.53-42.83 % para la humedad, 41.99-50.98 % para la grasa, 2.03-8.25 % para el contenido de sal y 20.74-33.35 % para la proteína. Se observó una baja proteólisis debido a un alto contenido de sal. En total, se identificaron 65 compuestos volátiles en el queso batido. La variación del perfil de péptidos, la electroforesis y el contenido de volátiles son debido a la falta de protocolos estandarizados de fabricación.

El queso Reggianito es una variedad de queso duro producido en Argentina, ampliamente consumido localmente y se exporta a varios países. Fue desarrollado a finales de los siglos 19 y principios del 20 como una adaptación de las tecnologías de fabricación de quesos italianos duros. En su fabricación se utiliza leche de vaca pasteurizada y cultivo de suero de leche natural compuesto por lactobacilos termófilos tales como *Lactobacillus helveticus* (66 %) y *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* (33 %). Es un queso madurado a 11-13 °C y humedad relativa de 82-85 %. El queso debe tener forma cilíndrica, con 5-10 kg de peso, bajo contenido de humedad (<35.9 g/100 g de queso) y un tiempo de maduración mínimo de 6 meses (Ceruti *et al.*, 2014).

El queso Ras es el principal queso duro tradicional en Egipto. Se fabrica en condiciones artesanales de leche cruda de vaca o mezcla de vaca y de búfala, sin utilizar cultivos iniciadores y comercializados cuando adquiere un sabor fuerte, después de 3 a 6 meses de maduración. Dabiza y El-Deib (2007) evaluaron cepas de *L. reuteri*, *L. casei* y *L. gasseri* con *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* para producir el queso Ras probiótico. Todas las cepas evaluadas inhibieron el crecimiento de coliformes, estafilococos, levaduras y mohos en los quesos. Además, el queso Ras probiótico podrían ayudar a controlar la intolerancia a la lactosa.

El queso de capa es producido en Colombia, en el municipio de Mompo, Bolívar. Es un producto artesanal que pertenece a la familia de los quesos de pasta hilada. La cuajada acidificada se somete a un amasado en caliente hasta plastificarla en bandas que se pueden separar como hilos. Granados *et al.* (2010) evaluaron las características fisicoquímicas y microbiológicas para estandarizar y tecnificar el proceso de fabricación del queso de capa. Se encontró que el queso de capa tecnificado presentó mayores porcentajes de sólidos totales y rendimiento que el artesanal, así como mejor calidad y propiedades organolépticas.

El queso ahumado andino es un queso fresco elaborado con leche de vaca, con un sabor ligeramente ahumado y poco ácido. A nivel artesanal, este queso se elabora de leche cruda sin la adición de cultivos iniciadores y la fermentación ocurre por un proceso natural, el ahumado se realiza en fogón de leña. Se manufactura en las zonas altas de las montañas de Los Andes venezolanos y, a pesar de no elaborarse de manera industrial es muy consumido, sobre todo en la región occidental de Venezuela (Alvarado *et al.*, 2007).

### **3.2 Queso de poro**

El queso de poro es un producto regional que se elabora en la subregión Ríos del estado de Tabasco, principalmente en los municipios de Balancán y Tenosique. Es un queso fresco, ligeramente maduro, de pasta blanda y prensada, elaborado con leche entera y cruda de vaca. A menudo, experimenta una maduración involuntaria adicional durante el periodo de distribución y comercialización. Se presenta al mercado en piezas pequeñas, prismático-rectangulares planas, con un peso que oscila entre 150 y 1000 g. Las piezas vienen parafinadas y envueltas en papel celofán amarillo, bajo el cual luce su etiqueta (Cervantes *et al.*, 2006).

Este queso presenta valores de pH cercanos a 4.0, concentración de cloruro de sodio de 3.96 a 4.27 %, actividad de agua entre 0.93 y 0.96 y acidez entre 0.54 y 0.87 (Pérez, 2012). Se conserva bien a temperatura ambiente, ya que las condiciones de la pasta previenen el crecimiento de bacterias. Es considerado un queso genuino ya que es elaborado con leche pura de vaca y un mínimo de aditivos permitidos por las normas vigentes. No incluye grasa vegetal ni derivados proteicos. Posee una raíz histórica de poco más de 60 años y es resultado del saber hacer tradicional (Queso de Poro Genuino de Balancán, 2009). En el Cuadro 1 se muestra la composición proximal y fisicoquímica del queso de poro.

Cuadro 1 Composición proximal y fisicoquímica del queso de poro.

<b>Composición</b>	<b>Promedio</b>	<b>Rangos</b>
Humedad (%)	33.20	26.32-41.87
Sólidos (%)	66.80	58.13-73.68
Proteínas (%)	28.61	24.27-32.75
Grasa	31.70	21.00-38.00
Cenizas (%)	4.26	2.15-7.10
Sal (NaCl) (%)	3.20	1.83-4.79
Calcio (ppm)	1773.70	890.35-3176.82
pH	4.34	3.88-5.21
Aw	0.940	0.884-0.968

Fuente: Yescas y Santacruz, 2013.

La pasta de este queso se encuentra fuertemente desmineralizada debido al reposo de varias horas de la cuajada húmeda en el molde. Durante el proceso de desmineralización la acidez de la pasta aumenta, constituyéndose ésta en un factor para su conservación. Otra característica notable de la pasta es su friabilidad (se desmorona fácilmente) al perder humedad, cuando el queso ha madurado algunas semanas. En el queso es fresco, al cortarse o tajarse la pasta parece separarse en capas; a veces también luce pequeños hoyos. Lo primero es debido a la disposición a la cuajada en capas durante el moldeado, y lo segundo es el probable efecto de la actividad de la microflora gasógena (Cervantes *et al.*, 2006).

De acuerdo con Cervantes *et al.* (2006) la elaboración del queso de poro se inicia con la adición a la leche del suero ácido de la cuajada del día anterior. Posterior a la cuajada se realiza el cortado del gel en bloques y se permite un reposo de 2 a 4 h. El moldeado se efectúa disponiendo la cuajada en moldes de madera, prismático-rectangulares, ahí la cuajada se auto-prensa. Tras el moldeado se efectúan cuatro inversiones de los moldes, en un lapso de 2 a 4 h. Después de la última inversión, la cuajada permanece dentro de los moldes durante un tiempo prolongado, entre 15 y 20 h.

El proceso del queso de poro continúa con el prensado, el cual se lleva a cabo empleando prensas rústicas de madera resistente. En ellas, cada queso fresco queda sujeto a la pesa de concreto o metal durante otras 24 h. La maduración se realiza colocando las piezas de queso recién desmoldado, en un armario de madera, cerrado. El salado final del queso se realiza frotando cada pieza con sal fina, en sucesivas aplicaciones, durante 3 días. Después de cada frotado, las unidades se reintroducen en el armario de maduración.

Posteriormente se realiza el parafinado sumergiendo las piezas de queso, previamente lavadas y oreadas, en un baño de parafina blanca fundida. El objetivo es formar una barrera contra la deshidratación del producto y la invasión de mohos. Finalmente se realiza la envoltura, las piezas de queso parafinadas se envuelven en papel celofán amarillo debajo del cual se coloca una etiqueta de identificación comercial.

En un estudio sensorial realizado por Fernández *et al.* (2011) se obtuvieron los descriptores del queso de poro de distintos productores de la subregión Ríos. Se seleccionó y entrenó a un grupo de 12 jueces lo cual permitió generar descriptores en la percepción de apariencia, olor, sabor y textura. Adicionalmente se realizó un estudio de consumidores en el municipio de Balancán, Tabasco. Los quesos también mostraron diferencias respecto a su nivel de agrado. Los descriptores para el queso de poro se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2 Descriptores finales de queso de poro por categoría.

<b>Apariencia</b>	<b>Olor</b>	<b>Sabor</b>	<b>Textura</b>
Amarillo	Leche búlgara	Ácido	Dureza
Láminas	Mantequilla	Mantequilla	Creoso
Hoyos	Suero	Leche	Suavidad



Húmedo	Ácido láctico	Rancio	Poroso
Blanco	Establo	Amargo	Masudo
Brilloso	Jocoque	Dulce	Seco
Cremoso	Ácido butírico	Astringente	Flexible
Mantequilla	Emmental	Pungente	
	Camembert		

Fuente: Fernández *et al.*, 2011.

En cuanto a la presencia de microorganismos en el queso de poro, Pérez (2012) ha reportado la presencia de *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, coliformes, y *Listeria monocytogenes*. Sin embargo, aunque existe la presencia de algunos microorganismos patógenos al tiempo cero, su número no aumenta conforme pasa el tiempo de almacenamiento, posiblemente como consecuencia de la limitante de los parámetros fisicoquímicos. El Cuadro 3 muestra la concentración de microorganismos indicadores al tiempo cero y a siete días de almacenamiento.

Cuadro 3 Microorganismos registrados en el queso de poro durante el almacenamiento.

<b>Bacteria</b>	<b>Tiempo cero (Log UFC/g)</b>	<b>Siete días (Log UFC/g)</b>
<i>Salmonella</i> sp.	3.77	1.85
<i>Staphylococcus aureus</i>	3.15	3.80
Coliformes	3.03	3.00
<i>Listeria monocytogenes</i>	1.00	Ausente

Fuente: Pérez, 2012.

Acosta (2009) evaluó el comportamiento de la flora microbiana durante el proceso de maduración de siete días del queso de poro, con la finalidad de establecer parámetros de calidad microbiológica que permitan mejorar la producción de este tipo de quesos en la región. Se encontró que las bacterias lácticas y las levaduras fueron los grupos de mayor concentración durante el proceso de maduración de siete días, mientras que los grupos de coliformes y *Staphylococcus aureus* disminuyeron su concentración al final del periodo de maduración.

El queso de poro presenta una alta acidez en comparación con otros quesos frescos. La elevada concentración de bacterias lácticas, así como su alta acidez, hacen del queso de poro un producto regional en cuya conservación no se emplea refrigeración, aun en la región del trópico, donde se alcanzan altas temperaturas. El incremento de la acidez se explica por la acción de microorganismos ácido-lácticos que utilizan los nutrientes del queso para producir ácidos orgánicos, como acético y láctico. En los alimentos con alta acidez los microorganismos patógenos presentan pocas posibilidades de sobrevivir (Acosta, 2009).

### **3.3 Maduración de quesos**

Entre los derivados lácteos, los quesos son productos que han venido creciendo en su variedad y calidad en varios países, abasteciendo la demanda interna y generando excedentes para la exportación. Los quesos madurados son una de las alternativas que podrían generar un mayor valor agregado a la leche cruda en la fabricación de quesos. Se ha reportado que los microorganismos patógenos presentes en quesos frescos, mantienen o disminuyen su concentración conforme pasa el tiempo de almacenamiento, posiblemente como consecuencia de la limitante de algunos parámetros fisicoquímicos (Pérez, 2012).

La maduración es el proceso que comprende un periodo de tiempo en el cual permanecen almacenados bajo ciertas condiciones de temperatura y humedad relativa según el tipo de queso. Luego de obtenida la cuajada y acondicionada mediante calentamientos, desuerados y prensados, algunos quesos deben someterse a la maduración, con el fin de permitir la deshidratación y formación de corteza, el desarrollo de compuestos químicos provenientes del metabolismo de las grasas, proteínas y azúcares, por la acción de las enzimas microbianas, naturales o añadidas, y que le confieren al queso el sabor y aroma característicos (Mazzeo *et al.*, 2009).

Los microorganismos desempeñan papeles esenciales en la fabricación y maduración del queso. En gran medida, contribuyen al desarrollo de las propiedades organolépticas de su metabolismo y variadas actividades enzimáticas, a la seguridad microbiológica a través de efectos de barrera de microflora compleja y la producción de varios compuestos antimicrobianos de bajo peso molecular. A pesar de una amplia investigación se ha hecho sobre las bacteriocinas de las bacterias del queso para el control de patógenos en quesos, hasta ahora sólo han surgido algunas aplicaciones (Grattepanche *et al.*, 2008).

Durante las últimas dos décadas los microorganismos probióticos, promotores de la salud, se han incluido cada vez más en diversos tipos de productos alimenticios, especialmente en las leches fermentadas. Por otra parte, bacterias patógenas como *Escherichia coli* O157:H7 han estado asociadas con el consumo de quesos elaborados con leche de vaca y ovinos. En algunos países se han reportado brotes causados por esta bacteria debido al consumo de alimentos lácteos contaminados (Villanueva, 2010). En algunos quesos, el tiempo de maduración ha influido en la concentración de microorganismos patógenos (Pérez, 2012).

Karimi y Nikmaram (2011) evaluaron el efecto del pH y diferentes bacterias probióticas en la supervivencia de *E. coli* O157: H7 durante la fabricación y maduración del queso feta artesanal y probiótico. Durante la maduración y almacenamiento del queso probiótico el número de organismo disminuyó significativamente, a diferencia del queso feta artesanal. Sin embargo, este estudio mostró que el procedimiento de fabricación de queso feta en salmuera y el queso probiótico no eliminan la bacteria *E. coli* O157: H7, por lo que también es importante mejorar las buenas prácticas de manufactura.

El queso feta es un queso clásico de Grecia, Turquía, Dinamarca, Rumania y Bulgaria, caracterizado porque la cuajada del queso se cura en salmuera. Este tipo de queso es muy tradicional y aparece descrito hace cientos de años y se remonta, por lo menos, a la antigüedad clásica. La feta se elabora generalmente con leche de oveja aunque puede encontrarse variedades con leche de yegua. En Grecia se elaboraba tradicionalmente con leche de oveja y cabra, proporcionándole un sabor bien definido. Actualmente, se utiliza también leche de vaca y su sabor ya no es tan definido (Karimi y Nikmaram, 2011).

El control de levaduras y mohos se ha realizado tradicionalmente por aditivos químicos, pero la aplicación de nuevos cultivos protectores antifúngicos es muy prometedora. Se ha demostrado recientemente que la microflora de quesos establecidos naturalmente puede prevenir eficazmente el crecimiento de microorganismos patógenos o de descomposición. El queso es también un vehículo muy adecuado pero subutilizado para la entrega de las bacterias probióticas, que confiere beneficios para la salud en el huésped (Grattepanche *et al.*, 2008).

Boza *et al.* (2010) evaluaron la incorporación del cultivo probiótico *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* LC-01 a un queso maduro para obtener un producto funcional por un período mínimo de maduración para su consumo. Se evaluó la maduración de 13, 30 y 45 días de maduración a 12 °C y 85 % de humedad relativa. Se modificó el proceso de elaboración del queso para obtener un queso recién prensado con un número de células probióticas viables mayor a  $1 \times 10^6$  UFC. Se encontró un incremento significativo en los recuentos del *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* para los tres tiempos de maduración con respecto al queso recién prensado.

En cuanto al pH, los valores disminuyeron a través de los 45 días de maduración. No se hallaron diferencias significativas en la aceptabilidad del sabor y la textura para los quesos sometidos a los distintos tiempos de maduración. La concentración del probiótico se mantuvo estable ( $1 \times 10^7$  UFC/ g en promedio) para un queso madurado 15 días, a lo largo de 49 días de almacenamiento a 5°C, sin que se haya registrado una tendencia de descenso o crecimiento significativa (Boza *et al.*, 2010).

### **3.4 Bacterias lácticas**

Las bacterias lácticas son un grupo de microorganismos representados por varios géneros con características morfológicas, fisiológicas y metabólicas en común. Son cocos o bacilos Gram positivos, no esporulados, no móviles, anaeróbicos, microaerofílicos o aerotolerantes. Son oxidasa N, catalasa y benzidina negativas, carecen de citocromos, no reducen el nitrato a nitrito y producen ácido láctico como el único o principal producto de la fermentación de carbohidratos (Ramírez *et al.*, 2011).

Este grupo de microorganismos está compuesto de un número de géneros incluyendo *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Pediococcus*. Algunos de los metabolitos producidos por este tipo de bacterias son ácidos orgánicos, sustancias preservantes, polisacáridos, vitaminas, endulzantes, olores y sabores. Debido a varias de sus propiedades metabólicas, estas bacterias desempeñan un papel importante en la industria alimentarias por su contribución a las características sensoriales, terapéuticas y valor nutricional (Parra, 2010).

Estas bacterias contribuyen al sabor, aroma, textura y valor nutricional de alimentos fermentados a través de la producción de exopolisacáridos y la modificación de proteínas, debido a su actividad

metabólica sobre proteínas, azúcares y lípidos, contribuyendo a la digestibilidad de alimentos y preservación del producto final. Las bacterias ácido lácticas son ácido tolerantes, pudiendo crecer a pH tan bajos como 3.2, otras a 9.6, y la mayoría a pH entre 4 y 4.5, Estos les permite vivir donde otras bacterias no soportan la actividad producida por los ácidos orgánicos (Ramírez *et al.*, 2011).

Muchas de ellas poseen propiedades probióticas y están presentes en la alimentación del hombre ya que se encuentran en productos como leches fermentadas, quesos madurados, cárnicos y hasta en algunas preparaciones de vegetales. Son microorganismos comensales de la piel y la mucosa del tracto digestivo y genital de humanos y animales. Este grupo bacteriano inicia la colonización del sistema digestivo al momento del nacimiento de un nuevo ser, la cual declina con la edad por disminución en la adhesión a la mucosa intestinal (Cueto-Vigil *et al.*, 2010).

### **3.4.1 Cultivos lácticos iniciadores en quesos**

El uso de cultivos iniciadores estandarizados y los métodos de producción controlados, ha tenido un efecto altamente positivo en la seguridad y calidad de los quesos elaborados en forma industrial. Sin embargo, ocasionaron cualidades casi uniformes en los mismos, situando en peligro de extinción a la microflora de la leche cruda. Estos aspectos generaron una fuerte necesidad en el mundo, de estudiar comunidades microbianas autóctonas y seleccionar cepas nativas con propiedades prometedoras para su aplicación como cultivos iniciadores, que preserven las características únicas de los quesos artesanales (Vasek *et al.*, 2008).

Ramos-Izquierdo *et al.* (2009) caracterizaron 20 cepas de bacterias ácido lácticas del queso crema tropical, tradicionalmente fabricado con leche cruda en el sureste de México, principalmente en los estados de Chiapas y Tabasco. Se realizaron cuentas de bacterias ácido lácticas, coliformes totales, *Escherichia coli*, hongos y levaduras en el queso elaborado con leche pasteurizada y queso artesanal. Las poblaciones más bajas se encontraron en el queso de leche pasteurizada, a excepción de las bacterias lácticas, que resultó igual en ambos tipos de queso.

Vasek *et al.* (2008) evaluaron algunos parámetros fisicoquímicos y sus efectos en la flora benéfica e indeseable durante la maduración del queso artesanal de Corrientes, una variedad argentina de queso, para determinar las mejores condiciones de maduración y mejorar la calidad sanitaria. Estudiaron la composición de la flora láctica presente en la materia prima y su evolución durante

la manufactura y maduración del queso con el objetivo de formular un cultivo iniciador autóctono. Se seleccionó el mejor cultivo iniciador para la producción a escala artesanal, lo que contribuirá a una mayor estandarización del producto.

Edalatian *et al.* (2010) aislaron 100 cepas de bacterias ácido lácticas de queso Lighvan, en cuatro etapas de producción: leche, cuajada, queso fresco y curado. La evolución de las bacterias mostró un patrón por el dominio de lactococos y lactobacilos en la primera etapa y la sustitución de estos géneros por enterococos al final de la maduración. Las cepas predominantes fueron *Enterococcus faecium* (22.44 %), *Lactococcus Lactis* ssp. *lactis* (20.4 %), *Lactobacillus plantarum* (18.36 %) y *Enterococcus faecalis* (14.28 %), respectivamente. Estas tres especies contribuyen a la maduración del queso Lighvan y tienen potencial para la aplicación a escala industrial.

Geria *et al.* (2014) aislaron 35 cepas de bacterias ácido lácticas del queso italiano artesanal Calabrian, Pecorino del Poro elaborado con leche cruda. Evaluaron el efecto antagonista frente a una cepa de *Escherichia coli*. Tres cepas de *Lactobacillus paracasei*, fueron activas contra todos los patógenos. Las cepas de *Lactobacillus plantarum* mostraron actividad antagonista contra algunos patógenos. Se demostró la actividad antagonista de los lactobacilos contra diversos patógenos transmitidos por los alimentos. Las bacterias lácticas pueden ser una estrategia eficaz para prevenir el desarrollo de patógenos en quesos artesanales elaborados con leche cruda.

Terzic-Vidojevic *et al.* (2014), investigaron la composición de las bacterias ácido lácticas en quesos jóvenes autóctonos, cremas dulces y kajmaks dulce (queso típico que se hace a partir de la nata de la leche hervida) producidos en la región de la montaña Vlašić de Bosnia y Herzegovina Central, cerca de la ciudad de Travnik. Estos tres productos se hicieron a partir de leche de vaca por un método tradicional, sin la adición de un cultivo iniciador y fueron evaluados durante cuatro estaciones.

En el estudio mencionado anteriormente se identificaron 15 especies de bacterias ácido lácticas: *Lactococcus lactis*, *Lactococcus raffinolactis*, *Lactococcus garviae*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus helveticus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus italicus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Leuconostoc lactis*, *Streptococcus thermophilus* y *Streptococcus mitis*.

En dicho estudio, también se observó una amplia heterogeneidad genotípica y fenotípica de las especies, en particular en las cepas de *Lactococcus lactis*. En todos los productos lácteos probados a través de cuatro estaciones, se encontró una correlación positiva significativa entre la presencia de lactococos y enterococos y una correlación negativa entre la presencia de lactococos y leuconostocs. El 45 % de los lactobacilos y 54.4 % de la lactococos mostró actividad proteolítica, mientras que 18.7 % de las bacterias totales ácido lácticas aisladas exhibieron actividad antimicrobiana.

Alvarado *et al.* (2007) aislaron 20 cepas de queso venezolano ahumado andino artesanal. Ocho pertenecieron al género *Lactococcus* y dos al género *Lactobacillus*. Se realizaron pruebas de capacidad acidificadora de la leche, resistencia antibióticos, resistencia a productos de limpieza de uso industrial y compatibilidad entre cepas. Se seleccionaron dos cepas de lactococos y dos lactobacilos como cultivos iniciadores para la fabricación de quesos ahumados con leche pasteurizada. Se demostró que los quesos elaborados con las cepas seleccionadas son equivalentes al artesanal fabricado con leche cruda.

Larios (2007) evaluó el perfil característico de las bacterias ácido lácticas del queso tipo Oaxaca elaborado con leche cruda en el estado de Hidalgo. Se seleccionaron 79 cepas con características de las bacterias ácido lácticas (Gram +, catalasa – y oxidasa -). Se identificaron cepas de *Streptococcus equinus*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum*, *Streptococcus mitis*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus paracasei*, subsp. *Paracasei*. Este trabajo exploratorio tiene la utilidad de conocer los géneros bacterianos y la proporción que podrían incluirse en un cultivo iniciador para la elaboración de quesos de leche pasteurizada.

Delgado *et al.* (2009) caracterizaron bioquímicamente bacterias lácticas aisladas queso Chihuahua a diferentes tiempos de maduración. De los grupos de microorganismos importantes en la industria alimentaria, las bacterias ácido lácticas están relacionadas con un gran número de productos fermentados. Las bacterias ácido lácticas se utilizan como cultivos iniciadores en la elaboración de quesos y son las responsables de las características de sabor y aroma de estos. Se ha descrito igualmente que durante el proceso de maduración del queso, existen cambios en la conformación de la microbiota.

En el trabajo de Delgado *et al.* (2009) se aislaron 109 bacterias lácticas de cinco muestras de queso Chihuahua (3 elaborados con leche cruda y 2 con leche pasteurizada). Se encontró que en los quesos no pasteurizados se incrementó el número de bacilos y disminuyó la presencia de cocos al incrementarse el tiempo de maduración. Se identificaron cepas de *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus casei* y *Streptococcus thermophilus*. La dinámica del crecimiento de bacterias lácticas es diferente en los quesos de leche cruda y pasteurizada, presentándose cambios en los tiempos de maduración.

Ortiz (2006) identificó 280 cepas de bacterias ácido lácticas de los géneros *Leuconostoc*, *Carnobacterium*, *Pediococcus* y *Lactococcus* en quesos fresco artesanales y leche producidos en el estado de Hidalgo. Se identificó con mayor abundancia la especie *Lactobacillus plantarum*. Este banco de microorganismos permitirá establecer el desarrollo de una línea de investigación y servirá de base para la aplicación industrial de las cepas, principalmente para que las cepas bacteriogénicas puedan aplicarse como cultivos iniciadores.

González (2013) evaluó la actividad enzimática de las cepas de bacterias lácticas aisladas del queso de Genestoso e identificadas a nivel de especie para llevar a cabo una selección de las cepas con mayor aptitud tecnológica y diseñar un cultivo iniciador autóctono para su uso en la fabricación industrial de quesos artesanales. La adición de cultivos iniciadores autóctonos puede contribuir a conservar la peculiaridad del producto y garantizar la calidad higiénico-sanitaria de los quesos. La recuperación de estos quesos artesanales podría suponer un plan de dinamización económica y social para la zona de producción del queso de Genestoso.

En el estudio anterior, realizado por González (2013) las cepas de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus paracasei* y *Enterococcus faecalis* son las más adecuadas para diseñar uno o más cultivos autóctonos. Todas estas cepas mostraron altos índices de hidrofobicidad, propiedad interesante en la selección de cepas probióticas. El estudio de incompatibilidad de cepas resultó imprescindible en la propuesta de cultivos mixtos. La combinación de cepas que mejor reproduzca los atributos de calidad del queso de Genestoso en las elaboraciones piloto previstas, constituirán los cultivos iniciadores autóctonos más idóneos.



### 3.5 Probióticos

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentos y la Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS, 2002) definen la palabra probiótico como: “organismos vivos que ingeridos en cantidad adecuada confieren un beneficio saludable en el huésped”. Para ello, se han establecido ciertas características que deben reunir estos microorganismos las cuales aseguran su eficiencia, eficacia y beneficio para el hospedero. Entre estas características se encuentran: no ser patógeno ni tóxico, estabilidad al contacto con bilis y ácido y adhesión a la mucosa intestinal (Cueto-Vigil *et al.*, 2010).

El uso de probióticos y el efecto de manipular la microflora intestinal fue inicialmente propuesto por Mechnikoff en 1907, quién reportó los efectos benéficos de las bacterias productoras de ácido láctico en la prevención y tratamiento de enfermedades intestinales en la gente que consumía leches fermentadas.

La interacción entre la cepa probiótica y la microflora intestinal puede basarse en la competición con bacterias patógenas por sitios de adhesión a los receptores epiteliales, por nutrientes y a la producción de sustancias específicas como son las bacteriocinas y los ácidos (Monroy *et al.*, 2009).

Las evidencias científicas indican que la ingestión de ciertos cultivos microbianos como probióticos ejerce beneficios en la salud, no sólo en el tracto gastrointestinal sino también en el respiratorio y en el urogenital, así como en la modulación del sistema inmune. Los mecanismos de acción de los probióticos son múltiples y cada probiótico puede tener funciones específicas que afectan al huésped. La mayoría de las bacterias conocidas como probióticos pertenecen al grupo de las bacterias ácido lácticas, bacterias que se utilizan para la elaboración de productos fermentados (González y González-Martínez, 2006).

Debido al auge en el consumo de alimentos probióticos, se incorporaron nuevos productos al mercado sin una normativa acerca de los requisitos de selección para los probióticos. La guía para la evaluación de probióticos incluye la identificación del género, especie y cepa probiótica, ensayos de resistencia a acidez gástrica y sales biliares, adherencia al moco intestinal y actividad antagónica contra patógenos. También se recomienda evaluar la seguridad mediante la evaluación

de resistencia a antimicrobianos, estudios *in vivo* utilizando animales y humanos (Alvarado-Rivas y Díaz-Rivero, 2009).

Uno de los requisitos principales es que los microorganismos probióticos deben permanecer viables y activos en el alimento y durante el pasaje gastrointestinal para garantizar así su potencial efecto benéfico en el huésped (Olagnero *et al.*, 2007). La concentración de probióticos viables que se considera que debe llegar al intestino para producir un efecto beneficioso debe ser mayor o igual a  $10^6$  UFC/ml en el intestino delgado y, mayor o igual a  $10^8$  UFC/g en el colon (Arribas *et al.*, 2008).

La cantidad de probióticos vivos que se deben ingerir para obtener un efecto positivo en el organismo, depende de la especie usada y del tipo de efecto buscado. De manera general, se considera que consumiendo diariamente 100 g de alimento que contenga entre  $10^6$  y  $10^7$  UFC/g viables, se producirá un efecto benéfico para la salud. La efectividad de los probióticos depende de que lleguen vivos y se establezcan en el colon. Debido a que los productos lácteos son hasta el momento los principales alimentos que contienen probióticos, la Federación Internacional de Lácteos recomienda que un mínimo de  $10^7$  UFC/g estén vivos en el momento en que se consume el alimento (Ramos-Clamont *et al.*, 2012).

Durante los últimos 20 años el uso de probióticos en diferentes campos productivos y de investigación se ha generalizado, esto debido al efecto que han demostrado tener en la prevención de enfermedades tanto en el ser humano como en muchas especies de animales, así como su uso en la conservación de alimentos, siendo una alternativa para contrarrestar el uso de químicos y antibióticos en la alimentación (Monroy *et al.*, 2009).

Entre los microorganismos utilizados como probióticos, las bacterias lácticas y las bifidobacterias ocupan el lugar más destacado, pero también se utilizan con este fin bacterias que pertenecen a otros géneros, como *Escherichia coli* y *Bacillus cereus*, así como levaduras, principalmente *Saccharomyces cerevisiae* (Arribas *et al.*, 2008). Los microorganismos probióticos producen sustancias antimicrobianas como ácidos láctico y acético, que por medio de la acidificación del intestino ayudan a inhibir la proliferación de algunos microorganismos patógenos, así mismo son

fuentes de metabolitos como peróxido de hidrógeno, diacetilo y bacteriocinas (Cueto-Vigil *et al.*, 2010).

### 3.5.1 Beneficios

Los avances científicos en relación a las propiedades saludables de los probióticos han aumentado significativamente, mostrando grandes avances en su efecto sobre diferentes funciones fisiológicas. Los hallazgos demuestran que las acciones a nivel fisiológico o clínico son cepa específicas, aspecto que toma cada día mayor relevancia en el desarrollo de alimentos funcionales asociados a probióticos (Manzano *et al.*, 2012).

De acuerdo con Arribas *et al.* (2008), se ha atribuido el efecto de los probióticos a su capacidad de modificar la composición de la microflora intestinal. El mejor conocimiento de estos microorganismos ha permitido establecer diferentes acciones a través de las cuales ejercen efectos beneficiosos: 1) Competencia con bacterias nocivas por desplazamiento de su sitio de unión al epitelio e inhibición de su crecimiento o muerte mediante la producción de compuestos antibacterianos o reducción del pH, 2) Mejora de la función de barrera intestinal, 3) Producción de nutrientes importantes para la función intestinal y 4) Inmunomodulación.

Es importante destacar que el efecto de los probióticos sobre la respuesta inmune no se limita a una actuación sobre el tejido intestinal. Pueden afectar a la inmunidad sistémica, especialmente en la población infantil, como son el eczema atópico y las alergias en general. Sin embargo, no todos los probióticos ejercen los mismos efectos, existiendo una gran variabilidad inmunológica entre especies, e incluso entre cepas pertenecientes a la misma especie. Por ejemplo, mientras que *L. acidophilus* aumenta la proliferación de linfocitos en el bazo del ratón, otras especies de *Lactobacillus* como *casei*, *gasseri* y *ramnosus* la inhiben (Arribas *et al.*, 2008).

En la actualidad, los estudios sobre el potencial anti-obesidad de los probióticos son de creciente interés. Los lactobacilos son uno de los probióticos bien estudiados debido a su efecto de prevención sobre los trastornos metabólicos. Rather *et al.* (2014) evaluaron el efecto anti-obesidad en ratones alimentados con dahi adicionado con *Lactobacillus casei*. El dahi es un producto lácteo fermentado tradicional en la India y es reconocido como un importante alimento funcional. Cerca del 9 % del total de la leche producida en la India es utilizada para la producción de dahi.

El Ayurveda, el sistema de medicina de la India, recomienda el consumo de dahi para curar algunos desórdenes gastrointestinales. En el estudio realizado por Rather *et al.* (2014) la alimentación con dahi probiótico redujo la ganancia de peso corporal y el peso de grasa del epidídimo. Por otra parte, la glucosa en sangre, los lípidos plasmáticos y el nivel de expresión de la leptina se redujeron y los recuentos de bifidobacterias cecales y los niveles de expresión de adiponectina aumentaron significativamente. Se puede concluir que la alimentación de dahi probióticos con *L. casei* NCDC19 mostró posibles efectos anti-obesidad.

En las enfermedades hepáticas, especialmente en la cirrosis y la esteatohepatitis no alcohólica, las alteraciones en la microbiota intestinal y en los mecanismos de respuesta inflamatoria desempeñan un papel importante en la progresión de la enfermedad y el desarrollo de complicaciones. Los probióticos, debido a su capacidad para modular la flora intestinal, la permeabilidad intestinal y la respuesta inmunológica, pueden ser eficaces en el tratamiento de las enfermedades hepáticas y en la prevención de las complicaciones de la cirrosis (Soriano *et al.*, 2013).

Diversos estudios han demostrado la eficacia de los probióticos en el tratamiento de la encefalopatía hepática mínima y en la prevención de episodios de encefalopatía aguda. Otros campos en los que se han observado efectos beneficiosos de los probióticos son el tratamiento de la esteatohepatitis no alcohólica y la prevención de infecciones bacterianas en los pacientes con trasplante hepático. Sin embargo, son precisos más estudios para confirmar la eficacia y seguridad de los probióticos en los pacientes con enfermedades hepáticas, así como para conocer mejor sus mecanismos de acción (Soriano *et al.*, 2013).

El síndrome de intestino irritable, es un trastorno funcional muy común y causa frecuente de consulta en gastroenterología. Su fisiopatología es multifactorial y se caracteriza por dolor abdominal, distensión y alteración de los hábitos defecatorios. Recientemente se ha incorporado al tratamiento, el uso de probióticos que podrían mejorar su sintomatología. Diaz *et al.* (2012) realizaron un estudio clínico que incluyó pacientes con diagnóstico de síndrome de intestino irritable. Se les administró bromuro de pinaverio y placebo o bromuro de pinaverio y probiótico.

En el estudio anterior se evaluaron 51 pacientes con promedio de edad de 43 años, mayoritariamente mestizos, 75% (38) casados y 55 % (28) del sexo femenino. Se encontraron

diferencias significativas en cuatro variables de comparación: dolor abdominal, severidad del dolor, días de dolor y el score total al final del tratamiento. Los probióticos utilizados como suplemento (*Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*) son efectivos en mejorar la sintomatología del síndrome de intestino irritable (Díaz *et al.*, 2012).

Los probióticos han demostrado efectos beneficiosos en el tratamiento de la diarrea aguda, principalmente en la secundaria a *Clostridium difficile*. Los probióticos son coadyuvantes en el manejo de la diarrea aguda al disminuir el número de deposiciones por evento. Sin embargo no sustituyen la terapia de rehidratación oral, la cual es el tratamiento por excelencia y el único capaz de evitar el deterioro en el paciente que pueda desencadenar inclusive la muerte. Aún faltan estudios para poder establecer una dosis de probióticos definitiva que produzca los efectos deseados y seguros (Navarro, 2011).

El consumo diario de alimentos probióticos reduce los niveles de colesterol sérico en un 3%, valor significativo para la prevención de la hipercolesterolemia, factor de riesgo de enfermedad cardiovascular y causal de mortalidad. Algunas especies del género *Lactobacillus* utilizadas en la industria alimentaria como probióticos, reducen el colesterol sérico por dos mecanismos, la adsorción de colesterol y producción de la enzima hidrolasa de sales biliares (Cueto y Aragón, 2012).

Cueto y Aragón (2012) evaluaron el potencial probiótico de 53 cepas de bacterias lácticas aisladas de suero costeño. Se evaluó el potencial probiótico mediante la tolerancia a pH 2.0, 0.3% de sales biliares, sensibilidad a vancomicina y cefoxitin y la capacidad de adsorber el colesterol medida por el método de Kimoto. La propiedad hipocolesterolemica de *Lactobacillus fermentum*, podría ser el inicio de la búsqueda de matrices alimentarias que permitan disminuir los niveles del colesterol sérico y adicione valor agregado al producto (Cueto y Aragón, 2012).

Existe fuerte evidencia de que los probióticos tienen la capacidad de ejercer un efecto anticarcinogénico en humanos y animales de experimentación. Sin embargo, los mecanismos no están claros. En México el cáncer de colon es un problema de salud pública relacionado con malos hábitos alimenticios, tabaquismo, alcohol y falta de ejercicio. Con los estudios reportados hasta el

momento, se ha demostrado que el consumo de probióticos, prebióticos o la combinación de ellos, favorece la prevención de enfermedades como el cáncer (Mayorga-Reyes *et al.*, 2010).

Los malos hábitos alimentarios han provocado el deterioro de la salud oral en personas de todas las edades. Los probióticos han surgido como una de las alternativas más prometedora para el manejo de enfermedades orales. La terapia probiótica disminuye el riesgo de colonización por patógenos orales sin alterar la microflora benéfica. Los probióticos se asemejan a la microbiota del cuerpo humano y se incorporan fácilmente en la microflora natural. Ellos son inofensivos y fáciles de consumir en muchas formas comestibles, tales como queso o yogur (Jain y Sharma, 2012).

Mortazavi y Akhlaghi *et al.* (2012) evaluaron los efectos de un queso probiótico adicionado con *Lactobacillus casei* sobre *Streptococcus mutans* salivales. Los sujetos consumieron queso con o sin probiótico dos veces al día durante dos semanas. Se encontró una reducción de *S. mutans* salival en el grupo probiótico. La intervención probiótica sólo fue eficaz en niveles elevados *S. mutans* ( $>10^5$  UFC/ml). La adición de *L. casei* al queso podría ser útil en la disminución de la cuenta de *S. mutans* en adultos entre 18-37 años de edad con nivel alto de *S. mutans*.

Sharafedinov *et al.* (2013) evaluaron el efecto de una dieta de 1,500 kcal complementada con un queso adicionado con el probiótico *Lactobacillus plantarum* TENSIA para reducir algunos de los síntomas del síndrome metabólico en adultos de Rusia, como la obesidad y la hipertensión. El índice de masa corporal se redujo significativamente en el grupo que consumió el queso probiótico. Una dieta hipocalórica suplementada con un queso probiótico ayuda a reducir el índice de masa corporal y los valores de presión arterial, síntomas reconocidos del síndrome metabólico.

Khalesi *et al.* (2014) analizaron mediante meta-análisis el efecto de los probióticos en el control de la presión arterial. Se encontró que el consumo de probióticos disminuyó significativamente la presión arterial sistólica (3.56 mmHg) y diastólica en (2.38 mmHg) en comparación con los grupos control. El análisis de subgrupos con dosis diaria de probióticos menor de  $10^{11}$  UFC no dio lugar a un efecto significativo. El consumo de probióticos puede mejorar la presión arterial en grado modesto, con un efecto potencialmente mayor cuando la presión inicial es elevada.

### 3.5.2 Propiedades

a) **Viabilidad.** La viabilidad es la capacidad que tienen los microorganismos probióticos de permanecer vivos, tanto en el alimento como en el intestino del consumidor durante un tiempo determinado, con el fin de lograr los beneficios de dichos alimentos. La viabilidad está relacionada con el método de producción y con el microorganismo adicionado al producto fermentado. En países como Colombia, se exige que las leches fermentadas con probióticos deben presentar una viabilidad en unidades formadoras de colonias de concentraciones no menores de  $10^6$  UFC/g durante un periodo mínimo de 21 días (Salazar y Montoya, 2003).

b) **Estabilidad frente a ácidos gástricos y bilis.** Existe un interés creciente en el uso de lactobacilos como probióticos. El uso de microorganismos como probióticos, requiere que éstos cubran ciertos requisitos, dentro de los cuales la resistencia a pH ácido y a sales biliares se considera de suma importancia debido a que deben adherirse al tracto intestinal. Actualmente existen distintos procedimientos que permiten evaluar la tolerancia al tránsito gastrointestinal. La resistencia a pH ácido y a sales biliares es una condición crítica dentro de la evaluación de cepas probióticas.

Bolado-Martínez *et al.* (2009) compararon la resistencia a sales biliares de 20 cepas de *Lactobacillus reuteri* aisladas de cerdos sanos, mediante dos procedimientos diferentes basados en la exposición a pH ácido. El análisis estadístico no mostró diferencias en la resistencia de las cepas a sales biliares cuando se realizó una exposición previa a pH ácido. Así, la exposición a pH ácido previo a la incubación con sales biliares, asemeja más a las condiciones fisiológicas que el microorganismo encontrará de manera natural y es una buena alternativa en la evaluación probiótica de lactobacilos.

La mayoría de los microorganismos caracterizados como probióticos no han sido sometidos a pruebas de resistencia frente a ácidos. Estas pruebas son imprescindibles ya que las respuestas varían de una especie a otra. El pH del estómago es de 1.5 y el tiempo medio desde que un alimento entra hasta que sale del estómago es de 90 min. Las pruebas *in vitro* de resistencia a pH deben verificar que los candidatos probióticos son capaces de resistir ese tiempo y pH sin perder viabilidad. Además, la matriz de alimentos consumidos juntamente con los probióticos pueden tener un efecto protector frente a los ácidos del estómago (González y González-Martínez, 2006).

**c) Adherencia.** Una de las propiedades importantes de las bacterias probióticas es su capacidad de adherirse a los sitios diana del intestino para expresar su funcionalidad. En estudios *in vitro* se han usado ampliamente la línea celular Caco2 y HT-29 para estudios de adherencia. Los organismos deben adherirse a la mucosa del intestino para ser designados como probióticos. El nivel de adherencia de las cepas bacterianas se correlaciona positivamente con el número de bacterias añadidas a cierto punto cuando la saturación de los posibles sitios de unión en líneas celulares ocurre (Duary *et al.*, 2011).

**d) Propiedades antimicrobianas.** El efecto protector de estos microorganismos se realiza mediante dos mecanismos: el antagonismo que impide la multiplicación de los patógenos y la producción de toxinas que imposibilitan su acción patogénica. Este antagonismo está dado por la competencia por los nutrientes o los sitios de adhesión. Mediante la inmuno-modulación protegen al huésped de las infecciones, induciendo a un aumento de la producción de inmunoglobulinas, aumento de la activación de las células mononucleares y de los linfocitos (De las Cagigas y Blanco, 2002).

Como se ha comentado, los probióticos son bacterias sin capacidad patógena, capaces de prevenir la adherencia, establecimiento, replicación y la acción de las bacterias patógenas. Entre los posibles mecanismos se incluye una modificación del pH en el lumen intestinal, debido fundamentalmente a la producción de ácidos orgánicos, principalmente lactato y los ácidos grasos de cadena corta acetato, propionato y butirato, como consecuencia de su capacidad fermentativa sobre la fibra dietética (Arribas *et al.*, 2008).

Otro mecanismo involucrado es la producción de compuestos antibacterianos como pueden ser bacteriocinas o peróxido de hidrogeno. Sin embargo, el desplazamiento de bacterias nocivas no necesariamente implica actividad bacteriostática o bactericida, sino que puede ser consecuencia de la competencia física por unirse al epitelio, consumiendo también los sustratos disponibles para las bacterias patógenas (Arribas *et al.*, 2008).

Las bacteriocinas son sustancias peptídicas con actividad antimicrobiana, producidas por diferentes cepas bacterianas. Las bacteriocinas producidas por diferentes bacterias probióticas pueden servir como barreras antimicrobianas y ayudar a reducir los niveles de microorganismos patógenos. Existen numerosas bacteriocinas y cada una tiene espectros de inhibición particulares.



Esta característica es aprovechada para la manipulación de poblaciones bacterianas a nivel de tracto digestivo con el fin de excluir patógenos, mejorar la digestibilidad e incrementar la actividad inmunológica de muchas especies (Monroy *et al.*, 2009).

Los ácidos grasos de cadena corta, principalmente acetato, propionato y butirato, generados principalmente en el intestino grueso, son los productos finales en la fermentación llevada a cabo por la flora bacteriana comensal de los carbohidratos procedentes de la dieta que no han sido digeridos en el intestino delgado. Son la principal fuente de energía para los colonocitos, regulando su desarrollo y diferenciación. Además, con su capacidad de colaborar en la función de barrera intestinal, tienen efectos tróficos sobre el epitelio intestinal (Arribas *et al.*, 2008).

### **3.6 Probióticos en quesos**

El queso es un producto lácteo que tiene un buen potencial para el suministro de microorganismos probióticos en el intestino humano debido a su composición química específica y las características físicas en comparación con las leches fermentadas. Los quesos poseen un valor de pH más alto y una menor acidez titulable, una mayor capacidad de almacenamiento en búfer, mayor contenido de grasa, mayor disponibilidad de nutrientes, contenido de oxígeno inferior y matriz más densa (Karimi *et al.*, 2011).

Además, alrededor del mundo se produce una gran variedad de tipos de queso y existe un consumo regular en la dieta a largo plazo, lo cual es reforzado por el valor nutricional de los quesos, lo cual se ha traducido en el crecimiento regular de mercado de los quesos probióticos. Para considerar que se ofrecen beneficios para la salud, los quesos probióticos deben mantener viables en los productos alimenticios una concentración de microorganismos probióticos por encima de un nivel umbral de  $10^6$  UFC/g hasta el momento del consumo, sin alterar adversamente los atributos sensoriales (Karimi *et al.*, 2011).

Por lo anterior, han sido objeto de numerosos estudios la incorporación de células probióticas en diferentes matrices de queso, los factores de composición y de proceso que afectan a la viabilidad de los probióticos, así como sus propiedades sensoriales. Factor que influye en la estabilidad de los probióticos en los quesos se pueden clasificar en tres áreas que incluyen factores de formulación, factores de proceso y materiales de embalaje.

### 3.6.1 Adición de probióticos

Se han publicado numerosos artículos científicos enfocados en el desarrollo de quesos frescos y madurados adicionados con cultivos reconocidos y potencialmente probióticos. Se han publicado quesos con adecuados recuentos viables de probióticos, así como la influencia positiva en la textura y en las propiedades sensoriales de los quesos. A continuación se exponen algunos estudios donde se han adicionado probióticos a quesos artesanales, así como estudios sobre el potencial probiótico de cepas aisladas de diferentes tipos de quesos, principalmente artesanales.

Sepúlveda *et al.* (2010) desarrollaron dos quesos frescos (queso crema y quesito antioqueño) con la adición de un cultivo probiótico. Como cultivo probiótico se utilizó el *Lactobacillus casei* y todos los productos fueron elaborados siguiendo la tecnología típica. Se concluyó que los quesos elaborados con el cultivo probiótico no presentaron diferencias con el producto típico y mantuvieron una buena viabilidad durante el almacenamiento. El queso crema mantuvo una vida de anaquel hasta los 21 días y el quesito antioqueño, solo de siete días.

Obando *et al.* (2010) evaluaron la viabilidad de los probióticos *Lactobacillus casei* 01, *Bifidobacterium* BB12, y *Lactobacillus acidophilus* La-5, en queso Cottage durante 0, 7 y 14, y 21 días. Todos los probióticos presentaron recuentos superiores a  $1 \times 10^6$  UFC/g hasta el final de la vida útil del producto (14 días). Los parámetros de calidad fisicoquímica y microbiológica de los quesos presentaron valores normales y sin diferencias significativas entre tratamientos. La calidad sensorial se vio afectada por el aroma y la sensación de humedad, parámetros que sí mostraron diferencias significativas entre tratamientos.

Suárez-Solís *et al.* (2008) evaluaron la obtención de un queso fresco probiótico adicionado con *Bifidobacterium bifidum* y *Lactobacillus casei*, elaborado a partir de leche de búfala. Se obtuvo un queso con características similares al queso crema tradicional cuyos principales indicadores resultaron: humedad 70.0 %, grasa 12.0 %, proteínas 10.0 % cenizas 1.77 % y acidez 1.39 %. La viabilidad de los probióticos fue de  $10^7$  UFC/g y su durabilidad fue de 17 días en el queso conservado entre 4 y 6 °C. La evaluación sensorial poblacional lo calificó como “Me gusta mucho”.

El queso Lighvan artesanal es un queso semiduro con una gran demanda en el mercado, es uno de los quesos tradicionales más populares en Irán. Se produce sobre todo a partir de leche de oveja o

de cabra, o una mezcla de los dos. El queso Lighvan tradicional madurado en salmuera es un componente importante en la dieta de los consumidores del noroeste del país. Se han hecho algunos esfuerzos para producir queso Lighvan a partir de leche pasteurizada. El período de maduración de este tipo de productos es de unos 90 días, pero los quesos elaborados con leche cruda en las unidades de producción pequeñas y rurales pueden ser madurado durante seis a ocho meses (Shahab, 2013).

Shahab (2013) evaluaron la producción de queso Lighvan probiótico enriquecido con *Bifidobacterium lactis*. Se evaluó la supervivencia de *B. lactis*, la composición química y las características organolépticas del queso Lighvan durante 60 días. Las células de *B. lactis* sobrevivieron en el queso en concentraciones de hasta Log 6.84 UFC/g durante al menos 60 días de tiempo de almacenamiento. La adición de *B. lactis* tuvo un efecto significativo en la composición química, pero no afectó las características sensoriales del queso tradicional.

Shahab y Ehsani (2012) caracterizaron la lipólisis del queso probiótico Lighvan a los 5, 25, 45 y 60 días de maduración. El efecto del tiempo de almacenamiento sobre la lipólisis de queso probiótico Lighvan fue significativo. Los rangos del valor grado ácido (%) y ácidos grasos libres (%) aumentaron continuamente hasta el final del período de maduración. La adición de *B. lactis* tuvo efecto significativo sobre el desarrollo ulterior de las características de la lipólisis del queso Lighvan, pero la tasa de comparación con algunos productos que utilizan diferentes métodos de producción fue lento.

Tharmaraj y Shah (2009) determinaron las propiedades antimicrobianas de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *Shermanii* contra organismos patógenos y de deterioro seleccionados en salsas a base de queso, para identificar las sustancias antimicrobianas producidas por estas bacterias contra cepas patógenas y de descomposición bacteriana.

Todas las bacterias probióticas ensayadas mostraron grados variables de inhibición hacia bacterias del deterioro y bacterias patógenas. Las bacterias formadores de esporas Gram positivas fueron más afectadas que las bacterias Gram negativas. Los ácidos orgánicos tales como ácido láctico,

fórmico, acético, propiónico, benzoico y ácidos fenil-láctico, producidos por las bacterias parecen desempeñar un papel importante en la inhibición de bacterias patógenas. En este estudio, las bacterias probióticas jugaron un papel limitado en la inhibición de bacterias patógenas como *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* y *Staphylococcus aureus*.

Sin embargo, las bacterias evaluadas por Tharmaraj y Shah (2009) mostraron un considerable efecto inhibitorio frente a *Pseudomona aeruginosa*, y una ligera inhibición contra *Bacillus cereus* en salsas. Dado que los ácidos acético, cítrico y láctico son componentes de inmersiones, el pH natural de la inmersión es ácido (4.3 a 4.4). Por lo tanto, la inclusión de bacterias probióticas en forma congelada o liofilizada (formularios disponibles comercialmente) en el cultivo no parece añadir propiedades inhibitorias inherentes de salsas.

El-Tanboly *et al.* (2010) evaluaron el efecto de un cultivo iniciador mesofílico modificado y *Lactobacillus* probiótico, como cultivo adjunto, en la calidad proteolítica de un queso semiduro. La velocidad de proteólisis de queso con bacterias probióticas fue ligeramente mayor que en el queso de control, probablemente como consecuencia de su diferente actividad proteolítica. La evaluación sensorial mostró una mayor aceptación que el queso control. La concentración de *Lactobacillus* sobrevivió a una concentración mayor de  $10^7$  UFC/g, necesaria para los efectos positivos sobre la salud.

Miočinović *et al.* (2014) investigaron la viabilidad de bacterias probióticas comerciales *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium lactis* en quesos bajos en grasa durante dos meses de maduración. No se encontró efecto en la composición, pH y proteólisis primaria. Los recuentos de bacterias probióticas comerciales se mantuvieron a niveles elevados ( $>10^7$  UFC) durante el período de maduración. Los cultivos probióticos mejoraron la tasa de proteólisis secundaria y la evaluación sensorial mostró que el aroma global de quesos bajos en grasa fue notablemente mejorada por la adición de los probióticos.

El queso Kareish es un queso de pasta blanda comúnmente hecho y consumido en Egipto. Este queso es una excelente fuente de proteínas, aminoácidos, calcio, fósforo, vitaminas y muchos micronutrientes. Las condiciones ambientales prevalecientes durante el almacenamiento, en combinación con la composición del queso a menudo crean posibilidades para un amplio

desarrollo de mohos en la superficie del queso, lo que reduce considerablemente su calidad (El-Diasty *et al.*, 2012).

Mahmoud *et al.* (2013) analizaron la incorporación de *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium bifidum*, libres o atrapadas en perlas de alginato, en queso Kareish almacenado en refrigeración (5-7 °C) durante 28 días. El conteo de *B. bifidum* se redujo profundamente después del séptimo día de almacenamiento hasta el final del período de almacenamiento. Las células libres se redujeron en 5 ciclos logarítmicos dentro de los 21 días, mientras que las células atrapadas disminuyeron en sólo alrededor de 2 ciclos logarítmicos en el mismo período.

El atrapamiento de células de *L. rhamnosus* y *B. bifidum* en perlas de alginato mejoraron su supervivencia durante el almacenamiento del queso Kareish. El recuento de mohos y levaduras se incrementó en todos los tratamientos de queso durante el período de almacenamiento. Incorporación de *L. rhamnosus* y *B. bifidum* en queso Kareish no afectó significativamente la composición química excepto acidez, valor de pH y el contenido de nitrógeno soluble. Tampoco hubo diferencias significativas en las características organolépticas de los queso (Mahmoud *et al.*, 2013).

Dabiza y El-Deib (2007) evaluaron el cultivo iniciador de *L. reuteri*, *L. casei* y *L. gasseri* por separado o mezclados con *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* para producir queso Ras probiótico. El primer cultivo iniciador produjo quesos con mayor concentración de nitrógeno soluble, aminoácidos esenciales y no esenciales y  $\alpha$  y  $\beta$ -galactosidasa, amino peptidasa y enzimas de la dipeptidasa, que la mezcla. Ambos cultivos iniciadores inhibieron el crecimiento de coliformes, estafilococos, levaduras y mohos en los quesos. Por otra parte, ambos cultivos iniciadores podrían ayudar en la intolerancia a la lactosa.

Escobar *et al.* (2012) evaluaron la producción de queso panela adicionado con probióticos (*Bifidobacterium breve* y *Lactobacillus rhamnosus*) y almidón de habas. La adición de almidón no afectó la viabilidad de las cepas de probióticos. Sin embargo, la microestructura y la textura fueron alterados, obteniendo un producto más suave. Un panel sensorial mostró el efecto menos deseable del almidón, mientras que la administración de probióticos no tuvo efecto en el sabor o la

apariciencia. El queso panela podría ser un alimento adecuado para la inclusión de bacterias probióticas.

La cepa de *Brevibacterium* es una especie importante en los productos lácteos que presentan un sabor específico y aroma a quesos madurados y quesos veteados azules debido a la proteólisis. Sin embargo, la presencia de esta especie en quesos veteados azules sudafricanos no es deseable. Knox *et al.* (2005) evaluaron hongos y cultivos probióticos con la finalidad de inhibir dicha especie. Ninguno de los hongos evaluados mostraron efecto inhibitorio, mientras que *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium lactis*, dos especies probióticas típicas aplicadas a los productos lácteos, mostraron efectos inhibitorios contra *Brevibacterium*.

Chinellato *et al.* (2013) evaluaron las características sensoriales y microbiológicas de un queso fresco brasileño adicionado con *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*., y povidexrosa, un ingrediente prebiótico. Las muestras de queso fueron evaluadas después de 0, 7, 14, 21 y 28 días de almacenamiento a 4 °C. Se obtuvo un recuento de coliformes a 30 °C y 45 °C en el cumplimiento de la legislación. Las muestras de quesos elaborados con leche fermentada con probióticos mostraron recuentos de  $10^7$ - $10^8$  UFC/g después de 28 días de almacenamiento, lo que asegura la propiedad funcional de este producto.

Flimelová *et al.* (2013) evaluaron parámetros químicos, microbiológicos y sensoriales de quesos con adición de cultivo probiótico e inulina, como prebiótico. Estas muestras se analizaron durante 15 días de almacenamiento a temperatura de refrigeración ( $7.0 \pm 2$  °C). No se observaron diferencias significativas en los parámetros físico-químicos. La acidez titulable se incrementó proporcionalmente al tiempo de almacenamiento. Los quesos adicionados con probiótico e inulina obtuvieron una mayor acidez.

En el estudio anterior, el número de microorganismos se elevó hasta el sexto día de almacenamiento. Después de 15 días de almacenamiento, se detectaron altos números microbianos en la muestra de queso adicionada con probiótico e inulina. Las adiciones de cultivo probiótico, así como la inulina fueron percibidos positivamente por los evaluadores hasta el día 10 de almacenamiento. En general, los evaluadores describieron las muestras como no aptos para el consumo después de 15 días de almacenamiento en términos de su gusto y del olfato.

Sabbagh *et al.* (2010) elaboraron un queso iraní bajo en grasa adicionado con probióticos, mantenido en salmuera. Los quesos probióticos tuvieron mayor humedad y pH. Sin embargo, se encontró una disminución del contenido de ácido acético y láctico. Los quesos bajos en grasa recibieron puntuaciones de sabor y olor más altas que los quesos con mayor contenido de grasa. El queso bajo en grasa probiótico iraní es un alimento funcional, posee mejor sabor y olor que el queso normal y se puede utilizar en muchos casos para tratar enfermedades del corazón y la obesidad.

Araújo *et al.* (2010) desarrollaron un queso cottage simbiótico adicionado con *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20 e inulina. Para evaluar la supervivencia de esta bacteria en el queso, se expuso a condiciones que simulan las que se encuentran en el tracto gastrointestinal. Los recuentos de células probióticas fueron más altos que las recomendadas para los productos probióticos que contienen 5% de inulina. El probiótico exhibió una resistencia satisfactoria a valores bajos de pH y a altas concentraciones de sales biliares. La adición de células probióticas y la inulina no generó alteraciones en las características fisicoquímicas del queso.

Sparo *et al.* (2012) evaluaron la actividad bioconservante del probiótico *Enterococcus faecalis* CECT7121 sobre la microbiota indígena de un queso de cabra artesanal. Se probó la actividad bactericida de *E. faecalis* contra enterobacterias y *Staphylococcus aureus* en queso de cabra. Sin embargo, los recuentos de células viables de *Lactobacillus* spp. y *Lactococcus* spp. no se modificaron. La actividad bioconservante mostrada por la cepa probiótica *E. faecalis* CECT7121 debe ser considerado como una herramienta potencial para una fabricación de queso de cabra artesanal más seguro.

Gomes *et al.* (2012) evaluaron el efecto de la adición de cultivos de bacterias ácido lácticas probióticas sobre la calidad de un queso semiduro de leche de cabra de Brasil, conocido como coalho. Todos los quesos presentaron una alta luminosidad con predominio del componente de color amarillo. El número de bacterias ácido lácticas en fue mayor a  $10^7$  UFC/g durante el almacenamiento. Los quesos con las cepas de probióticos añadidos solos y en cocultivo fueron mejor aceptados que los quesos sin las cepas probióticas. Se sugiere que el queso de cabra coalho podría ser un portador potencial de bacterias probióticas.

### 3.6.2 Probióticos nativos

La adición de probióticos y prebióticos como estrategia para mejorar la inocuidad de los quesos se ha empleado en muchas variedades. Sin embargo, los quesos también son fuente de bacterias que pueden poseer propiedades probióticas, por lo que su consumo, puede ser una fuente de beneficios para la salud, además de los nutrientes y las características propias de olor y sabor. El aislamiento de bacterias ácido lácticas de productos lácteos se ha venido realizando con la intención de evaluar el potencial probiótico de las cepas aisladas.

Martín del Campo *et al.* (2008) aislaron 350 cepas de bacterias ácido lácticas de quesos frescos. Fueron probadas contra bacterias Gram positivas (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*) y Gram negativas (*Salmonella agona*). 25 cepas mostraron capacidad antagónica debido a la disminución del pH, por la producción de ácidos orgánicos. Todas las cepas mostraron actividad antagónica en contra de bacterias Gram positivas, mientras que *S. agona*, no fue inhibida por ninguna de las cepas. La inhibición bacteriana es una de las características de las bacterias probióticas.

Geria *et al.* (2014) evaluaron 35 cepas de bacterias ácido lácticas aisladas de un queso artesanal de leche cruda. Se identificaron seis cepas de lactobacilos y su acción fue evaluada frente a cuatro cepas de patógenos Gram negativos transmitidos por alimentos (*Escherichia coli* O26, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. 1023, y *Salmonella typhimurium*) y la cepa de control *Escherichia coli* ATCC 45922. Tres cepas de *Lactobacillus paracasei* fueron activas contra todos los patógenos, mientras que las otras cepas de *Lactobacillus plantarum* mostraron actividad antagonista contra algunos patógenos.

Este estudio realizado por Geria *et al.* pone de relieve la intensa y diferente actividad antagonista inducida por los lactobacilos contra diversos agentes patógenos transmitidos por los alimentos, demostrando así que el uso de bacterias lácticas seleccionadas como cultivos adjuntos podrían ser una estrategia eficaz para prevenir el desarrollo de patógenos transmitidos por los alimentos en quesos artesanales elaborados de leche cruda, y por lo tanto, mejorar la seguridad de su consumo.

Terzic-Vidojevic *et al.* (2014) investigaron la presencia de bacterias ácido lácticas en quesos autóctonos jóvenes, cremas dulces y kajmaks dulces producidos en la región de la montaña de



Vlasic central de Bosnia y Herzegovina, cerca de la ciudad de Travnik. Se identificaron 15 especies de bacterias ácido lácticas: *Lactococcus lactis*, *Lactococcus raffinolactis*, *Lactococcus garviae*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus helveticus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus italicus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Leuconostoc lactis*, *Streptococcus thermophilus* y *Streptococcus mitis*.

En el estudio realizado por Terzic-Vidojevic *et al.* se observó una amplia heterogeneidad genotípica y fenotípica de las especies, en particular en la cepa de *Lc. lactis*. En todos los productos lácteos evaluados durante cuatro estaciones, se observó una correlación positiva significativa entre la presencia de lactococos y enterococos y una correlación negativa entre la presencia de lactococos y leuconostocs. 45 % de los lactobacilos y 54.4% de la lactococos exhibió actividad proteolítica, mientras que el 18.7 % de las bacterias ácido lácticas aislados exhibieron actividad antimicrobiana.

Vallejo *et al.* (2009) estudiaron la actividad inhibitoria sobre *Escherichia coli* O157:H7 de 6 cepas seleccionadas de *Lactobacillus* aisladas de queso ovino. El efecto antimicrobiano de los sobrenadantes no inhibió actividad enzimática de la catalasa o la tripsina. En consecuencia, la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> o de un agente de naturaleza proteica, no se consideró como responsable del efecto inhibitorio. La inhibición del crecimiento de *E. coli* O157:H7 fue debido a la producción de ácidos orgánicos, especialmente ácido láctico. La aplicación directa de cepas ácido lácticas o sus metabolitos antimicrobianos para inhibir bacterias patógenas en alimentos refuerzan el concepto de biopreservación.

Cueto-Vigil *et al.* (2010) evaluaron un grupo de 53 bacterias ácido lácticas aisladas del suero costeño. Las cepas fueron sometidas a estudios preliminares *in vitro* simulando las condiciones del tracto digestivo, para determinar sus características como potenciales probióticos. Se encontró que 54.7% de las bacterias evaluadas son tolerantes a las condiciones de pH ácido y 49.1% a 0.3% de sales biliares con una población de 10<sup>6</sup> log UFC/ml. Siete cepas fueron seleccionadas por presentar sensibilidad a vancomicina, antibiótico de importancia epidemiológica y se adhirieron a mucus intestinal, reuniendo las condiciones requeridas para considerarse como potencialmente probióticas.

Yang *et al.* (2012) aislaron e identificaron bacterias ácido lácticas con capacidad bacteriocinogénica de varios quesos y yogures y evaluaron sus efectos antimicrobianos sobre el deterioro seleccionado de un producto alimenticio y microorganismos patógenos *in vitro*. Se utilizó *Lactobacillus sakei* y *Listeria innocua* como organismos indicadores. De 138 aislamientos, 28 resultaron inhibir estas bacterias y fueron identificados como cepas de *Enterococcus faecium*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei*.

En el estudio anterior realizado por Yang *et al.* se encontró que 20 % de las bacterias aisladas inhibió el crecimiento de *L. innocua* y *Lact. sakei*. La producción de ácidos orgánicos y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por las bacterias ácido lácticas tuvieron efectos antimicrobianos en todos los microorganismos ensayados. La actividad bacteriocinogénica de las bacterias ácido lácticas presentes en quesos y yogures pueden tener potencial para ser utilizados como bioconservantes en los alimentos, principalmente productos lácteos.

Gutiérrez *et al.* (2007) evaluaron la viabilidad de una cepa de *Lactobacillus casei* con actividad probiótica aislada de un queso crema. El queso crema ofrece una serie de ventajas con respecto a las leches fermentadas como vehículo de microorganismos probióticos: el pH, mayor consistencia, contenido graso y capacidad tamponante, estos factores contribuyen a la protección de los microorganismos probióticos durante el almacenamiento. La adición de los probióticos no alteró las propiedades organolépticas, permitiendo la sobrevivencia de éstos en la cantidad necesaria para producir efectos benéficos a la salud de los consumidores.

Mojarad y Ganbarov (2014) evaluaron un queso artesanal de Lankaran, Jalil Abad, de la región de Azerbaiyán. Los aislados fueron sometidos a resistencia a los antibióticos y los efectos antibacterianos contra bacterias patógenas convenientes. Los resultados revelan dos probióticos con mayor homología con *Lactobacillus fermentum* y *Lactobacillus plantarum*. No se encontró resistencia a los antibióticos en ninguno de los lactobacilos aislados en estas regiones, donde las personas siguen un estilo de vida que es en gran parte tradicional, con medicamentos tradicionales.

Vallejo *et al.* (2008) evaluaron el potencial probiótico de 20 cepas de *Lactobacillus* spp. aisladas de quesos ovinos provenientes del Valle Inferior del Río Chubut, Patagonia Argentina. Se analizó la tolerancia a pH ácido y sales biliares, actividad antimicrobiana y actividad de β-galactosidasa.

En 10 cepas se observó supervivencia luego de 4 h de incubación a pH 1.0 siete cepas sobrevivieron a pH 2.0, dos cepas a pH 2.5, mientras que una cepa no toleró ninguno de los tratamientos.

En todas las cepas estudiadas por Vallejo *et al.* no se alteró la tasa de duplicación en presencia de 0.3 % de sales biliares. Doce cepas desarrollaron actividad inhibitoria contra todos los microorganismos Gram-positivos y negativos estudiados. No se detectó actividad de  $\beta$ -galactosidasa en 6 cepas, mientras que las restantes desarrollaron actividades comparables a las obtenidas en las cepas comerciales. Las cepas de *Lactobacillus* LbTw3, LbTw5 y LbTw7 exhibieron valores superiores al 78% y se sometieron a pruebas de autoagregación.

Los resultados obtenidos por Vallejo *et al.* sugieren una fuerte relación entre la capacidad de autoagregación y la hidrofobicidad de la superficie celular. Sobre la base de los resultados obtenidos por las cepas de *Lactobacillus* LbTw3, LbTw5 y LbTw7 presentan características para ser consideradas como cepas potencialmente probióticas. Debido a que los microorganismos no necesitan cumplir con todos los criterios de selección, las restantes cepas pueden ser sometidas a posteriores pruebas con el objeto de estudiar propiedades adicionales.

El queso Cotija es un queso mexicano elaborado de manera artesanal con leche cruda producida en la zona geográfica de Jalisco y Michoacán, madurado por un tiempo mínimo de 3 meses. González y Torres (2013) determinaron la resistencia a sales biliares de bacterias ácido lácticas aisladas de queso Cotija e identificadas por género y especie para estudiar su potencial probiótico. Se identificó a *Lactobacillus delbrueckii* y *Leuconostoc mesenteroides*, recuperados de corteza, pasta y centro del queso. Solo 8 cepas resistieron durante 3 h con sales biliares al 6% y pH 6.6.

Liladhar y Parag (2012) aislaron y realizaron la determinación taxonómica de bacterias ácido lácticas de queso artesanal. Se aisló una cepa de *Lactobacillus* sp, se evaluó su tolerancia a pH ácido, sal biliar, la susceptibilidad a los antibióticos, la actividad antibacteriana y actividad hemolítica. Se encontró tolerancia a pH 2, pH 3 y 2% de sales biliares, así como resistencia a cloranfenicol, en comparación con la cepa de control positivo de *Staphylococcus aureus*. A partir de esa cepa se elaboró un helado probiótico.

Duary *et al.* (2011) aislaron cepas de lactobacilos de muestras fecales humanas (*L. plantarum* Lp72, *L. plantarum* Lp75, *L. plantarum* Lp77, *L. plantarum* LP90, *L. plantarum* Lp91), leche (*L. plantarum* LP9) y queso (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CH4). Evaluaron su potencial de adherencia *in vitro* e hidrofobicidad de la superficie celular y la adhesión a líneas celulares en Caco2 y HT-29. Las cepas aisladas presentaron valores de hidrofobicidad inferiores a la cepa de referencia. En el análisis comparativo, la cepa de *Lactobacillus plantarum* Lp91 (de origen humano) fue el cultivo más eficiente al expresar una mayor hidrofobicidad.

Melgar-Lalanne *et al.* (2014) evaluaron la supervivencia de cepas de lactobacilos bajo condiciones de estrés aisladas de queso de Chiapas (*Lactobacillus plantarum*, *L. pentosus* y *L. acidipiscis*) y comerciales (*L. casei* Shirota y *L. plantarum* 299v). Todas las cepas crecieron en condiciones óptimas a 6% de NaCl y mostraron un crecimiento subletal hasta el 16 % de NaCl. Todas las cepas crecieron bien a valores de pH entre 4.0 y 8.0, con un crecimiento subletal hasta pH 2.0 y pH 9.0. Todas las cepas pueden considerarse seguras ya que resultaron  $\gamma$ -hemolíticas y gelatinasa negativas.

Además, todas las cepas evaluadas por Melgar-Lalanne *et al.* mostraron patrones similares de resistencia a antibióticos. Finalmente, todas las cepas resistieron las dosis normalmente utilizadas en la industria de alimentos de nisina y lisozima. Con estos resultados se puede concluir que las dos cepas comerciales de lactobacilos son halotolerantes y que las cinco cepas aisladas del queso Chiapas pueden usarse en un amplio rango de productos alimenticios.

Hamid y Abulfazl (2012) evaluaron el potencial probiótico de cepas de *Lactobacillus* aislada de un queso tradicional en el mercado de Tabriz, Irán. Se evaluaron 50 muestras de queso. Después de enriquecimiento en caldo MRS, se evaluó la resistencia de la flora bacteriana a la resistencia de pH y sales biliares. Los lactobacilos aislados pertenecen a *L. plantarum* y *L. fermentum*. Los resultados mostraron que el queso tradicional de Tabriz contiene una cepa con características superiores de los lactobacilos probióticos.

Medved'ová *et al.* (2008) analizaron el efecto de bacterias ácido lácticas sobre el crecimiento de dos microorganismos contaminantes (*Geotrichum candidum* and on *Staphylococcus aureus*) aislados del queso artesanal de talego. El cultivo de bacterias lácticas a una concentración inicial

de  $10^6$ - $10^7$  UFC/ml inhibió significativamente el crecimiento de ambos microorganismos. Las tasas de crecimiento de *G. candidum* y *S. aureus* fueron menores y la duración de la fase lag se prolongó en comparación con los datos como resultado del crecimiento de monocultivo.

Jamaly *et al.* (2011) aislaron 18 cepas de *Lactobacillus* a partir de productos lácteos tradicionales marroquíes y evaluaron su potencial probiótico *in vitro*. Los resultados mostraron que todas las cepas ensayadas toleran condiciones gástricas ácidas (pH 2.0 y pH 3.0), mientras que diez de ellas son resistentes a la bilis. Aunque no se detectó actividad de bacteriocinas *in vitro* para las diez cepas resistentes a la bilis, mostraron una fuerte actividad antagonista frente a siete conocidas bacterias patógenas transmitidas por los alimentos. Además, se investigó que ningún de las cepas fuera hemolítica.

Además, en el estudio realizado por Jamaly *et al.* todas las cepas estudiadas fueron sensibles a Kanamicina y Tetraciclina, y la mayoría de ellas se observaron resistente sólo a uno o dos de los antibióticos probados. Por último, se encontraron cuatro cepas de lactobacilos (*Lactobacillus plantarum* LPL2, *Lactobacillus paracasei* LPAR2, *Lactobacillus paracasei* LPAR9 y LBR *Lactobacillus brevis*) sensibles a todos los antibióticos evaluados, y mostraron buenas propiedades de adherencia y de hidrofobicidad, por lo que podrían ser exploradas para la fabricación de alimentos y conocimientos científicos.

Cruz (2011) evaluó parcialmente las propiedades probióticas de *Enterococcus faecium* QPa.1, aislada de quesos de elaboración artesanal. Se encontró sensibilidad a la mayoría de los antibióticos ensayados, ausencia de actividad hemolítica, actividad antimicrobiana específica frente a *Listeria monocytogenes*, tolerancia a diferentes concentraciones de sales biliares (0.3 a 2% de bilis de buey) y resistencia a pH 2 y 3. Asimismo reveló una buena actividad proteolítica y propiedades de adherencia.

## **4 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1 Área de estudio**

El municipio de Balancán se localiza en la subregión Ríos, del estado de Tabasco, México, teniendo como cabecera municipal a Balancán de Domínguez. Se encuentra entre las coordenadas 17° 48' latitud norte y entre 91° 32' longitud oeste. Está formado por una extensión de 3,626.10 km<sup>2</sup> y se encuentra a una altura promedio de 30 msnm. La ganadería es el sector más importante de la economía local, y se practica de manera extensiva. La actividad industrial más importante es la fabricación de quesos, principalmente el queso de poro (Enciclopedia de los Municipios de Tabasco, 2006).

Dentro de este municipio se encuentra el Instituto Tecnológico Superior de los Ríos con 17 años de servicio, tiene como zona de influencia los municipios de Balancán, Emiliano Zapata, Jonuta y Tenosique, en el estado de Tabasco; las poblaciones de Playas de Catazajá y Palenque, en el estado de Chiapas; y las poblaciones de Palizada y Candelaria, en el estado de Campeche. Ofrece 7 carreras profesionales (Ing. Industrial, Ing. En sistemas computacionales, Ing. Bioquímica, Ing. Electromecánica, Ing. Civil, Ing. Ambiental y la Lic. En administración).

### **4.2 Plan de muestreo**

Los quesos fueron obtenidos por compra de la quesería Bejucal ubicada en la ciudad de Balancán de Domínguez, Tabasco. Fundada desde 1968 y dedicada a la elaboración de quesos artesanales, principalmente el queso de poro y botanero, manufacturados manualmente y con leche 100% de vaca, proveniente en su mayoría, de ganado cebú-pardo-suizo, dándole un sabor característico, una imagen y acabado adecuado. Forma parte del patrón organizado por la Asociación de Productores de Queso de Poro Genuinos de Balancán.

Durante el periodo del 26 de marzo al 09 de abril de 2014, se colectaron 30 muestras de aproximadamente 250 g durante 15 días de queso de poro recién empacados para venta, con 5 días de maduración. Los quesos fueron transportados en contenedores cerrados al Laboratorio de Microbiología del Instituto Tecnológico superior de los Ríos, mantenidos a temperatura ambiente. En el Instituto, se permitió a las muestras madurar durante siete días adicionales para cumplir con 12 días de maduración, a temperatura ambiente. La temperatura media mensual en la subregión

Ríos oscila entre 22 y 28° C y la precipitación fluctúa de 1 800 a 2 500 mm anuales (Manjarrez *et al.*, 2007).

Tradicionalmente, el queso de poro se madura durante 12 días. Sin embargo, debido a las altas ventas, este tiempo se ha reducido por algunos fabricantes a siete y hasta tres días. Por lo tanto, es importante mantener una microflora responsable de impartir características típicas del queso que se requiere fabricar ya que los consumidores aprecian los quesos artesanales por sus singulares características de sabor y aroma, que son atribuidas a la actividad metabólica de la microbiota autóctona presente en la leche cruda.

Cumplido con el tiempo de maduración, se tomaron 10 g de cada muestra obtenida de diferentes secciones, como el centro y la corteza, las fueron cortadas en pequeñas piezas. Posteriormente, se sometieron a análisis físicos y microbiológicos para la cuantificación de las bacterias ácido lácticas, pH, acidez, aislamiento de cepas y realización de las propiedades probióticas y antagónicas de las cepas. Los análisis se realizaron por duplicado.

#### 4.3 Cuantificación de bacterias lácticas

Se analizaron 30 muestras de queso, con un periodo de maduración de 12 días. Se eligieron las muestras de un solo productor, comprendidas del 26/03/2014 al 09/04/2014. El recuento se realizó de acuerdo al procedimiento propuesto por Corona y Jiménez (2004). Se depositaron 10 µl de cada dilución (hasta 10<sup>-8</sup>) en agar de Man Rogosa y Sharpe (MRS) y agar M-17. Para obtener el número de UFC/g se contaron las colonias de la dilución mayor y se multiplicó por 100 (para obtener 1 ml) y por el inverso de la dilución. Se incubaron a 37°C durante 48 h en bolsa anaerobia (Rosenblatt y Stewart, 1975). En el cuadro 4 se muestra la información básica de los medios de cultivos utilizados.

Cuadro 4 Información básica sobre los medios de cultivos utilizados.

Medio	Marca	Contenido (g)	Lote	No. de catálogo
Agar M-17	DIBICO®	450	9904072	1268-A
Agar MRS	DIBICO®	450	10521093	1267-A
Caldo de Soya Trypticaseina	DIBICO®	450	10473093	1042-A

#### 4.4 Aislamiento e identificación de bacterias lácticas

Se seleccionaron cepas con características típicas de las colonias de bacterias ácido lácticas. En cada cepa aislada se realizaron dos pruebas preliminares: tinción de Gram y prueba de la catalasa. Las colonias obtenidas fueron cultivadas en el agar correspondiente (MRS o M-17) hasta obtener cepas puras. La identificación preliminar se realizó mediante la tinción de Gram, positiva para bacterias ácido lácticas (Tortora *et al.*, 2007) y prueba de catalasa, negativa (Gamazo *et al.*, 2005).

#### 4.5 Evaluación probiótica

a) *Evaluación de resistencia a pH*. Esta prueba se realizó de acuerdo a lo establecido por Rondon *et al.* (2008). Las cepas seleccionadas fueron cultivadas en caldo soya tripticaseina (CST) a pH 6.5 y 37°C durante 18 h. Posteriormente, de cada cultivo se inoculó 1.0 ml en caldo CST a pH 2.0, ajustado con HCl 0.1 N. Se incubó a 37 °C durante 3 h, para incluir el tiempo de la fase Log de crecimiento, donde las bacterias son sensibles a la concentración de pH. Se realizaron conteos de células a las 0 h y 3 h. El porcentaje de resistencia a pH ácido se calculó por la ecuación:

$$\% \text{ de resistencia a pH} = [(\text{UFC/ml})_{\text{pH } 2.0} \times 100] / (\text{UFC/ml})_{\text{pH } 6.5}$$

Se estableció como criterio de selección escoger aquéllas cepas que resistieron el pH ácido por encima del 50%.

b) *Actividad antagónica de las cepas*. Para determinar la actividad antagónica de se utilizó como referencia el método descrito por Vallejo *et al.* (2009), quienes describieron la utilización de bacterias lácticas aisladas del queso en el proceso de inhibición de coliformes, por lo tanto en este proyecto se generó el procedimiento que se describe a continuación: las cepas de bacterias ácido lácticas en estudio se cultivaron en CST (caldo soya tripticaseina) a 37 °C durante 24 h al igual que las bacterias patógenas seleccionadas para esta prueba, luego se inocularon por extensión 100 µl del cultivo de la bacterias patógena en el agar MRS, posteriormente se adicono 50 µl de la cepa de la bacteria láctica en estudio por el método de la gota, y se dejó incubar durante 24 h a 37 °C. La actividad antagónica se detectó por la presencia de halos de inhibición alrededor de las gotas.



#### **4.6 Análisis físicos**

*a) pH.* Se determinó de acuerdo a la NMX-F-099-1970. Método de prueba para la determinación de pH en queso procesados.

*b) Acidez.* Se determinó de acuerdo a la NMX-F-206-1986. Alimentos. Lácteos. Determinación de acidez expresada como ácido láctico en leche en polvo.

## 5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo se evaluó la presencia de bacterias ácido lácticas con actividad probiótica en la flora nativa del queso de poro. El queso de poro es un producto regional que se elabora en la subregión Ríos del estado de Tabasco, principalmente en los municipios de Balancán y Tenosique, México. En este apartado se presentan los resultados obtenidos al cuantificar y aislar bacterias ácido lácticas del queso de poro con 12 días de maduración, la evaluación de algunas propiedades probióticas de las bacterias aisladas del queso de poro y la cuantificación de ácido láctico como acidez total, en el queso.

### 5.1 Cuantificación de bacterias ácido lácticas

En el Cuadro 5 se muestra la concentración de bacterias ácido lácticas obtenida en 30 quesos de poro con 12 días de maduración, mediante cultivo tradicional. En promedio, se obtuvieron concentraciones similares con ambos medios de cultivo: Log 6.08 UFC/g con el medio M17 (rangos Log 4.82 a 8.15 UFC/g) y Log 6.04 UFC/g con el agar MRS (rangos Log 5.00 a 6.73 UFC/g). Aunque ambos medios se emplean para el crecimiento de bacterias ácido lácticas, el M17 se emplea principalmente para el cultivo de cocos y el MRS, para el cultivo de bacilos.

En la actualidad se dispone de una variedad de medios de cultivo para el aislamiento y diferenciación de bacterias ácido lácticas. Sin embargo, sólo algunos medios se consideran selectivos. La capacidad selectiva se basa en las características bioquímicas (catalasa, oxidasa y coloración de gram) y productos de las especies a aislar (ácido acético, diacetilo, acetoína y gas carbónico). Los medios de cultivo más utilizados para aislar bacterias ácido lácticas son: el medio M17 para *Lactococcus* spp., el MRS para *Lactobacillus* spp. y, el MSE para *Leuconostoc* spp (Suárez, 2008).

El medio MRS es un medio de cultivo apropiado para el aislamiento y recuento de lactobacilos y otras bacterias ácido lácticas a partir de muestras clínicas y alimentos, especialmente productos lácteos. Los lactobacilos presentan colonias pequeñas, blanco-grisáceo, lisas o rugosas (Britania®). Cuando crecen en cultivos mixtos el M17 es el medio de cultivo indicado para cuantificar y diferenciar *S. thermophilus* de los lactobacilos, presentando colonias redondas, blancas, lisas y brillantes (Ramírez-Baca *et al.*, 2009).

Cuadro 5 Concentración de bacterias ácido lácticas, acidez y pH en queso de poro.

<b>No.</b>	<b>Acidez (% de ácido láctico)</b>	<b>pH</b>	<b>Agar M17 (Log UFC/g)</b>	<b>Agar MRS (Log UFC/g)</b>
<b>1</b>	0.891	3.92	5.95 ± 0.35	5.79 ± 0.10
<b>2</b>	1.107	4.06	5.92 ± 0.08	5.95 ± 0.05
<b>3</b>	0.702	4.30	7.00 ± 1.00	6.65 ± 0.35
<b>4</b>	0.468	4.03	5.57 ± 0.43	5.59 ± 0.11
<b>5</b>	0.711	4.03	6.05 ± 0.05	6.65 ± 0.05
<b>6</b>	0.738	3.73	4.82 ± 0.12	5.04 ± 0.26
<b>7</b>	0.801	3.87	6.65 ± 0.35	6.48 ± 0.00
<b>8</b>	1.098	3.98	6.65 ± 0.35	6.45 ± 0.15
<b>9</b>	0.441	3.93	6.00 ± 0.00	6.73 ± 0.26
<b>10</b>	0.504	4.10	6.50 ± 0.20	6.73 ± 0.26
<b>11</b>	0.603	4.03	6.15 ± 0.15	5.65 ± 0.65
<b>12</b>	0.504	4.00	5.95 ± 0.35	5.65 ± 0.35
<b>13</b>	0.468	4.01	6.65 ± 0.35	6.57 ± 0.27
<b>14</b>	0.549	4.07	8.15 ± 0.15	6.50 ± 0.50
<b>15</b>	0.504	4.03	6.39 ± 0.09	6.38 ± 0.08
<b>16</b>	0.459	3.87	6.24 ± 0.24	6.24 ± 0.24
<b>17</b>	0.576	3.77	6.30 ± 0.30	6.15 ± 0.15
<b>18</b>	0.468	3.89	5.65 ± 0.06	6.54 ± 0.06
<b>19</b>	0.747	3.95	6.00 ± 0.00	6.48 ± 0.00
<b>20</b>	0.801	3.86	5.15 ± 0.15	5.45 ± 0.45
<b>21</b>	0.369	3.85	6.61 ± 0.16	6.60 ± 0.00
<b>22</b>	0.549	3.96	6.30 ± 0.03	6.30 ± 0.03
<b>23</b>	0.459	3.71	6.20 ± 0.95	6.15 ± 0.15
<b>24</b>	0.594	3.64	6.54 ± 0.54	5.00 ± 1.00
<b>25</b>	0.468	3.85	6.09 ± 0.09	6.39 ± 0.39
<b>26</b>	0.594	3.67	4.98 ± 0.02	5.15 ± 1.15
<b>27</b>	1.215	4.03	5.45 ± 0.45	6.00 ± 0.00

<b>28</b>	0.621	3.89	5.80 ± 0.20	5.81 ± 0.03
<b>29</b>	0.405	3.84	5.39 ± 0.09	5.22 ± 0.38
<b>30</b>	0.441	3.74	5.16 ± 0.01	5.00 ± 0.00

En agar M17 se obtuvieron rangos de Log 4.82 a 8.15 UFC/g, presuntivamente colonias de *Streptococcus*, de acuerdo al agar de cuantificación, mientras que en el agar MRS el rango fue de Log 5.00 a 6.73 UFC/g, de lactobacilos. En un estudio sobre la evolución de las bacterias lácticas en queso Lighvan, Edalatian *et al.* (2010) reportaron que la evolución de las bacterias lácticas mostró un patrón por el dominio de lactococos y lactobacilos en la primera etapa, comprendida por 15 días y la sustitución de estos géneros por enterococos al final de la maduración de 60 días.

De igual manera, Terzic-Vidojevic *et al.* (2014) reportaron que en todos los productos lácteos probados a través de cuatro estaciones, se encontró una correlación positiva significativa entre la presencia de lactococos y enterococos durante los primeros días de maduración. En el queso de poro de 12 días, no se encontró diferencia entre los promedios de bacterias cuantificadas en agar M17 y agar MRS. En un estudio realizado por Acosta (2009) sólo se evaluaron bacterias lácticas, reportando rangos entre Log 6.60 - 8.80 UFC/g.

En cuanto a la concentración obtenida de bacterias lácticas, es importante resaltar que en quesos donde se han adicionado probióticos, se han obtenido concentraciones similares a los obtenidos para el queso de poro. Obando *et al.* (2010) evaluaron la viabilidad de los probióticos *Lactobacillus casei* 01, *Bifidobacterium* BB12, y *Lactobacillus acidophilus* La-5, en queso Cottage durante y se encontró que los probióticos presentaron recuentos superiores a  $1 \times 10^6$  UFC/g hasta el final de la vida útil de 14 días del producto. En el Cuadro 6 se muestra una comparación de la concentración de bacterias lácticas en diferentes quesos.

Suárez-Solís *et al.* (2008) evaluaron la sobrevivencia de los probióticos *Bifidobacterium bifidum* y *Lactobacillus casei* adicionados a un queso fresco de leche de búfala. La viabilidad de los probióticos fue de  $10^7$  UFC/g y su durabilidad fue de 17 días en el queso conservado entre 4 y 6 °C. De igual manera, Shahab (2013) evaluaron la adición de *Bifidobacterium lactis* en queso Lighvan probiótico. Se encontró que las células de *B. lactis* sobrevivieron en el queso en concentraciones de hasta Log 6.84 UFC/g durante al menos 60 días de almacenamiento.

El-Tanboly *et al.* (2010) evaluaron la concentración de una cepa de *Lactobacillus* probiótico en un queso semiduro. La concentración de *Lactobacillus* sobrevivió a una concentración mayor de  $10^7$  UFC/g, necesaria para los efectos positivos sobre la salud. Gomes *et al.* (2012) evaluaron la adición de bacterias ácido lácticas probióticas en un queso semiduro de leche de cabra de Brasil, conocido como coalho. El número de bacterias ácido lácticas en fue mayor a  $10^7$  UFC/g durante el almacenamiento. Se reportó que los quesos con las cepas de probióticos añadidas fueron mejor aceptados que los quesos sin las cepas probióticas.

Cuadro 6 Concentración de bacterias ácido lácticas en diferentes quesos.

<b>Tipo de queso</b>	<b>Bacterias lácticas (Log UFC/g)</b>	<b>Medio de cultivo</b>	<b>Referencia</b>
Adobera	6.72 – 8.49	Actidiona- Polimixina-Nitrito	Martín del Campo <i>et al.</i> , 2008.
Panela	7.11 – 8.78	Actidiona- Polimixina-Nitrito	Martín del Campo <i>et al.</i> , 2008.
De poro	6.60 - 8.80	MRS	Acosta, 2009.
Fresco (10 días)	6.30 -7.40	MRS	Flimelová <i>et al.</i> , 2013.
Queso joven Travník	6.22 - 9.12	MRS	Terzic-Vidojevic <i>et al.</i> , 2014.
De poro Bejucal	4.82 - 8.15	M17	Este estudio.
De poro Bejucal	5.00 - 6.73	MRS	Este estudio.

La concentración de bacterias ácido lácticas, así como la concentración de probióticos es importante ya que se relacionan con los efectos producidos en la salud. En yogur, la NMX-F-444-1983 especifica que la concentración de bacterias lácticas debe ser como mínimo Log 6.30 UFC/g y en los quesos analizados se encontraron concentraciones cercanas a lo que exige la norma para yogurt, lo que convierte a estos quesos en una buena fuente de bacterias lácticas. Sin embargo, aún es necesario implementar estrategias para incrementar la concentración de bacterias lácticas en el queso de poro.

El yogur, generalmente debe contener al menos  $10^6$  bacterias viables por gramo a la hora de su consumo, aunque estos límites no se observan en todos los países ya que en Francia y España, el

mínimo requerido es de  $5 \times 10^8$  UFC/ml, mientras que en Suiza se ha establecido como norma  $10^6$  UFC ml/1, en Japón  $10^7$  UFC g/1 y en Portugal  $10^8$  UFC/g (Ramírez-Baca *et al.*, 2009). Sin embargo, Ramos-Clamont *et al.* (2012) consideran que la cantidad de probióticos vivos que se deben ingerir para obtener un efecto positivo en el organismo, depende de la especie usada y del tipo de efecto buscado.

De manera general, se considera que consumiendo diariamente 100 g de alimento que contenga entre  $10^6$  y  $10^7$  UFC/g viables, se producirá un efecto benéfico para la salud. La efectividad de los probióticos depende de que lleguen vivos y se establezcan en el colon. Debido a que los productos lácteos son hasta el momento los principales alimentos que contienen probióticos, la Federación Internacional de Lácteos recomienda que un mínimo de  $10^7$  UFC/g estén vivos en el momento en que se consume el alimento (Ramos-Clamont *et al.*, 2012).

## 5.2 Aislamiento de cepas

En total se aislaron más de 100 cepas. Una vez realizadas las prueba de la catalasa y la tinción de Gram, se seleccionaron 67 cepas como Gram positivas y catalasa negativas. De ellas, 33 fueron bacilos y 34 cocos, de acuerdo al medio en el cual fueron cultivadas. Todas las cepas con las anteriores características fueron utilizadas para el proceso de selección de acuerdo con sus propiedades probióticas. Los alimentos probióticos poseen niveles importantes de estas bacterias las cuales producen una serie de componentes biológicamente activos que ofrecen efectos fisiológicos deseables más allá de sus efectos nutricionales.

Se ha reportado que en quesos artesanales, durante los primeros días de maduración es frecuente el aislamiento de bacterias lácticas del género *Lactococcus* ssp. (Alvarado *et al.*, 2007). Este hecho se explica por la alta concentración de estas bacterias en la leche. Sin embargo, en las etapas posteriores de maduración, entre 30 y 45 días, la proporción entre *Lactococcus* spp. y *Lactobacillus* spp. se invierte y, son los *Lactobacillus* spp. quienes presentan una mayor concentración (Suárez, 2008). En este estudio, la maduración del queso de poro fue de 12 días, lo que explica que se presentaron concentraciones similares de ambos microorganismos.

Jokovic *et al.* (2011) evaluaron la maduración del queso Radan. Identificaron cepas de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Enterococcus faecium* y *Lenconostoc mesenteroides* como la

población dominante de bacterias ácido lácticas hasta los 10 días de maduración. Sin embargo, al avanzar la maduración, *Lactobacillus plantarum* se convirtió en la especie predominante. Durante la maduración de quesos, los enterococos representan el 38.77 %, los lactobacilos, 31.66 % y lactococos, 20.4 % como los géneros más frecuentes identificados en todas las etapas.

Edalatian *et al.* (2010) evaluaron la maduración de quesos Lighvan. La evolución de la maduración mostró un patrón por el dominio de lactococos y lactobacilos en la primera etapa y la sustitución de estos géneros por enterococos al final de la maduración. En un estudio similar, Gutiérrez *et al.* (1988) estudiaron la evolución de la microflora de queso de cabra de Valdeteja durante 27 días de maduración. Se observó un predominio de las bacterias lácticas: los estreptococos lácticos y los leuconostocs alcanzaron valores de  $10^9$  UFC/g a los 0-2 días de maduración. Los lactobacilos aumentaron hasta alcanzar cifras similares a los 17 días.

### **5.3 Caracterización probiótica**

En total se seleccionaron 67 cepas con características de bacterias ácido lácticas, 34 en medio M17 y 33 en agar MRS. Se sometieron a la prueba de viabilidad a pH 2.0 durante tres horas y a actividad antagónica contra microorganismos patógenos como *Salmonella* sp. y *Escherichia coli*, las cuales fueron seleccionadas debido a su presencia en alimentos. Romero-Castillo *et al.* (2009) evaluaron muestras de queso crema tropical, de cinco queserías seleccionadas aleatoriamente en Tonalá, Chiapas; los quesos no cumplieron con las normas microbiológicas para *E. coli* y *Salmonella*.

Duran *et al.* (2010) evaluaron la calidad microbiológica de quesos de cabra en Carora, estado Lara, Venezuela. En este estudio se determinó la presencia de *E. coli*, y de *Citrobacter freundii*. De igual manera, Martínez *et al.* (2013) evaluación de la calidad e inocuidad de quesos frescos artesanales de tres regiones de una provincia de Cuba. El conteo de *Escherichia coli* mostró valores superiores a  $1.0 \times 10^3$  UFC/g y en el 19% de las muestras analizadas se detectó la presencia de *Salmonella* spp. y en el 14% estaba presente *Escherichia coli* O157.

### a) Resistencia a pH bajo.

Considerando que en el proceso de selección de cepas de interés probiótico, es fundamental comprobar la capacidad de tolerancia a las condiciones adversas a su paso por el tracto gastrointestinal y su comportamiento ante los agentes empleados en el tratamiento de infecciones.

Las cepas seleccionadas, una vez cultivadas en caldo MRS a un pH de 6.5, recomendado por el medio de cultivo, se evaluó su capacidad de resistir valores de pH bajos. De 67 cepas evaluadas, 24 sobrevivieron a pH 2 durante 3 h, 19 en medio M17 y 5 en agar MRS, como se observa en el Cuadro 7.

Cuadro 7 Resistencia de cepas ácido lácticas de queso de poro a pH 2 por 3 h.

Cepa	Medio	Resistencia a pH 2.0 (%)
1	M-17	116.35
3	M-17	101.40
6	M-17	93.75
7	M-17	109.64
8	M-17	51.07
9	M-17	106.48
10	M-17	96.61
11	M-17	94.55
12	M-17	96.31
14	M-17	107.40
16	M-17	66.67
18	M-17	116.17
23	M-17	95.64
25	M-17	98.90
26	M-17	103.42
27	M-17	96.85
30	M-17	98.07
31	M-17	100.30



32	M-17	96.98
37	MRS	94.98
39	MRS	107.35
44	MRS	99.89
47	MRS	102.02
56	MRS	109.64

La capacidad de producir ácido y disminuir el pH del sustrato está relacionada con la capacidad de crecimiento de las cepas de bacterias ácido lácticas, por lo que a mayor población, mayor cantidad de ácido producido. Las bacterias probióticas deben alcanzar el sitio donde desarrollan su acción benéfica en condiciones y concentraciones adecuadas, por lo que es necesario que sean capaces de sobrevivir a las barreras del tránsito gastrointestinal (Rondón *et al.*, 2008).

La resistencia a bajos valores de pH y a las sales biliares es de gran importancia en la supervivencia y crecimiento de las bacterias en el tracto gastrointestinal, por lo que se considera como prerrequisito para evaluar a las posibles cepas probióticas. Los efectos de la bilis y el pH ácido han sido investigados por diferentes autores, como pasos obligados para la selección de cepas probióticas (Tsai *et al.*, 2005; Rondón *et al.*, 2008).

Se ha observado que a pH 2 muchas cepas disminuyen sustancialmente su viabilidad. No obstante, constituye un criterio de selección importante si se parte del hecho de que el jugo gástrico puede llegar a valores de pH de 0.5 - 2.0 (Rondón *et al.*, 2008). La capacidad de crecimiento de las cepas seleccionadas en el presente estudio alcanzó altos valores, propiedad que debe caracterizar a las cepas probióticas, ya que deben presentarse en cantidades suficientes para llegar al tracto gastrointestinal, resistir los impedimentos químicos que aquí se presentan y ser capaces de establecerse para lograr una buena colonización de la mucosa y el contenido intestinal.

La acidez producida por el estómago con pH de 2-3 constituye una de las principales barreras para muchos microorganismos que transitan el tracto gastrointestinal. Muchas especies de lactobacilos pueden hacer frente a esta barrera porque son microorganismos acidúricos, con pH óptimo de crecimiento en el rango de 5.5 - 6.2, capaces de crecer a pH inferior a 5. Este crecimiento lo logran gracias a mecanismos celulares que les permiten mantener el pH intracelular cercano a la

neutralidad, tales como bombas de extracción de protones. Sin embargo, la eficiencia de estos mecanismos puede variar en los miembros de una misma especie (Alvarado-Rivas y Díaz-Rivero, 2009).

### b) Actividad antagónica

Para evaluar la actividad antagónica de las bacterias ácido lácticas aisladas de queso de poro se seleccionaron 24 cepas bacterianas resistentes a pH 2 durante tres horas, 19 cepas de M17 y 5 de MRS. En el Cuadro 8 se muestran los resultados del antagonismo contra *Salmonella* sp. y *Escherichia coli*. De las cepas evaluadas contra *Salmonella* sp, ninguna de las aisladas en agar M17 mostró inhibición contra este microorganismo, mientras que dos cepas aisladas en agar MRS inhibieron su crecimiento. Contra *E. coli*, se obtuvieron seis cepas aisladas en M17 y cuatro en MRS. Sólo dos cepas (37-MRS y 47-MRS) inhibieron el crecimiento de ambas bacterias patógenas (Figura 1).

Cuadro 8 Antagonismo de cepas de ácido lácticas contra *Salmonella* sp. y *E. coli*.

Cepa	Medio	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Escherichia coli</i>
3	M-17	-	+
18	M-17	-	+
23	M-17	-	+
27	M-17	-	+
30	M-17	-	+
32	M-17	-	+
37	MRS	+	+
44	MRS	-	+
47	MRS	+	+
56	MRS	-	+

+ =  $\geq$  20 mm de inhibición.

De las 24 cepas evaluadas, 14 cepas no mostraron inhibición contra ninguno de los dos patógenos evaluados. Sin embargo, estas cepas aún pueden ser evaluadas contra otros microorganismos de importancia en alimentos, así como evaluar otras propiedades probióticas, ya que son cepas

resistentes a pH bajos. De igual manera, pueden ser evaluadas como productoras de metabolitos con acción funcional, benéfica para el ser humano o con actividad contra otros microorganismos, como bacteriocinas, ácidos orgánicos o peróxido de hidrógeno.

La producción de ácidos orgánicos por determinados grupos de bacterias beneficiosas de la microbiota indígena favorece la reducción del pH intestinal. Los bajos valores de pH son considerados como el principal factor en la inhibición del desarrollo de enteropatógenos como *Salmonella* spp., *Escherichia coli* y *Campylobacter* sp. Además, la acidificación del lumen intestinal acelera las reacciones bioquímicas de la digestión (Rondón *et al.*, 2008).

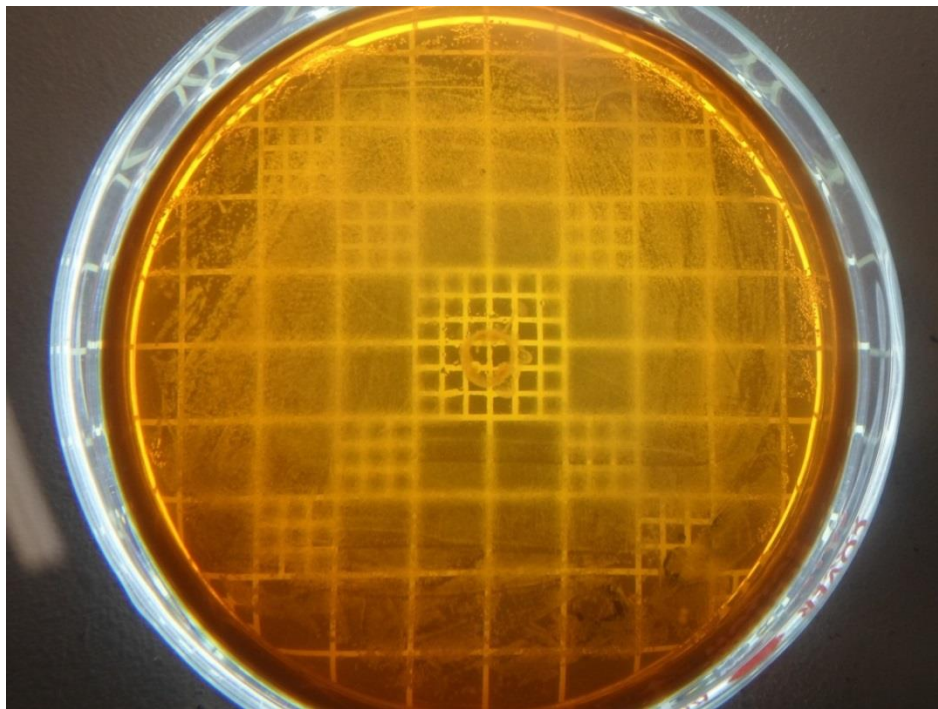


Figura 1 Inhibición de *Escherichia coli* por cepa 47-MRS aislada del queso de poro.

Sánchez y Tromps (2014) evaluaron las propiedades probióticas de 72 cepas de bacterias ácido lácticas para su uso como probióticas en animales y humanos. Seleccionaron 14 cepas, de las cuales el 63.6% inhibieron el crecimiento de *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus*, el 75.7 % inhibió a *Salmonella typhimurium* y el 72.7 % a *Pseudomonas aeruginosa*. Como puede comprobarse en este estudio y en las cepas aisladas del queso de poro, las bacterias lácticas son capaces de inhibir patógenos adaptados a vivir en medio ácido como la bacteria *Salmonella* (Álvarez-Ordóñez *et al.*, 2009).

Al analizar la presencia de *Salmonella enteritidis* var. Typhimurium en quesos inoculados con diferentes concentraciones del patógeno, Sánchez y Tromps (2014) observaron que en los quesos con la adición de probióticos se advierte la presencia del patógeno sólo con grandes concentraciones de inóculo. En contraste, se observó una mayor presencia de *Salmonella* en los quesos sin probióticos. Los probióticos ejercieron una inhibición transitoria en el desarrollo de *Salmonella* en las diferentes concentraciones inoculadas.

La bacteria *Salmonella* y el grupo de coliformes son dos tipos de microorganismos frecuentemente presentes en queso. En queso de poro, Pérez (2012) evaluó el efecto de la maduración en la disminución de grupos indicadores. En el Cuadro 9 se observa que aunque hubo disminución de estos grupos indicadores, no se logró eliminar la presencia en quesos de siete días de maduración. Estos resultados muestran un panorama alentador para el uso de los probióticos como estrategia para contribuir al logro de la inocuidad alimentaria, además de los efectos en la salud que ya se han demostrado.

Cuadro 9 Microorganismos indicadores en queso de poro a tiempo cero y 7 días de maduración.

Microorganismo	0 días	7 días
<i>Salmonella</i>	3.77	1.85
<i>S. aureus</i>	3.15	3.80
Coliformes	3.03	3.00
<i>L. monocytogenes</i>	1	Ausente

Fuente: Pérez, 2012.

#### 5.4 Acidez y pH

Otros valores evaluados en el queso de poro con 12 días de maduración es la acidez y el pH. Los valores obtenidos se muestran en el Cuadro 10. Se obtuvo una concentración alta de acidez, teniendo como promedio 0.629 con rangos entre 0.369 y 1.215, mientras que para el pH se obtuvo un valor promedio de 3.92 con rangos entre 3.71 y 4.30. De acuerdo a estos resultados, el queso de poro es considerado un queso ácido. Los quesos ácidos de leche cruda se fabrican y se consumen en algunas regiones tropicales de América, África del Norte y en los países del este del Mediterráneo (Pérez y Bucio, 2010).

Cuadro 10 Variables físicas y microbiológicas analizadas en el queso de poro.

Concentración	Acidez (% de ácido láctico)	pH
Promedio	0.629	3.92
Rangos	0.369-1.215	3.71-4.30

Los quesos de leche cruda con valores de pH altos son, generalmente, conocidos como vehículos de infección, mientras que los quesos con valores de pH más bajos pueden ser considerados como un grupo de bajo riesgo microbiano, debido a que el patógeno puede estar bajo nivel estrés alto. La seguridad microbiana de estos quesos está asociada a las propiedades bacteriostáticas dadas por sus peculiaridades de fabricación. En este tipo de quesos es posible el uso de leche cruda ya que la calidad sanitaria se puede mejorar mediante el uso de leche de buena calidad y siguiendo las buenas prácticas de fabricación en todo el proceso (Pérez y Bucio, 2010).

La Figura 2 muestra el incremento en la acidez del queso de poro durante siete días de maduración a temperatura ambiente. Después de siete días de maduración a temperatura ambiente, en los quesos de las tres fábricas se obtuvo un incremento en la acidez. Este aumento en la acidez se explica por la acción de microorganismos ácido-lácticos que utilizan los nutrientes presentes en el queso como fuente de carbono para producir ácidos orgánicos, como cítrico, acético y láctico (Acosta, 2009).

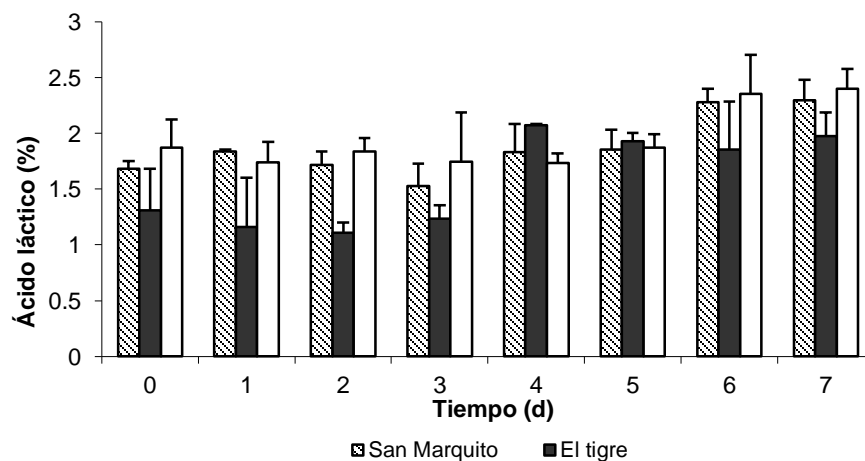


Figura 2 contenido de acidez en queso de poro durante la maduración de 7 días.

Fuente: Acosta, 2009

Por otra parte, se ha encontrado que la acidez es un factor esencial en la conservación de alimentos. En los alimentos con alta acidez los microorganismos patógenos presentan pocas posibilidades de sobrevivir. Esto hace que los alimentos ácidos sean seguros para ser consumidos, ya que además, pueden mejorar la flora microbiana benéfica compuesta principalmente por *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (Parra, 2010).

En el Cuadro 11 se compara la acidez del queso de poro con una maduración de 12 d con otros quesos similares. La acidez del queso de poro fue parecida que en otros quesos similares, aunque menor que el queso de poro de siete días de maduración. El queso blanco duro tipo llanero es uno de los productos lácteos básicos en la dieta del venezolano, el cual es madurado durante diez días. Al igual que el queso de poro, es elaborado a partir de leche cruda siguiendo esquemas artesanales empíricos, no estandarizados (Mendoza y Oyón, 2002).

La elaboración del queso llanero es similar a la del queso de poro, y presenta valores de acidez muy parecidos. Uno de los quesos que presentó valores de acidez cercanos a los del queso de poro de siete días fue el queso crema adicionado con probióticos. La acidez en queso de poro de doce días fue significativamente baja en relación a los quesos poro de siete días. Estos datos sugieren la presencia de microorganismos productores de ácidos orgánicos. Este queso presenta una acidez de 0.82 en porcentaje de ácido láctico (Ramos *et al*, 2005)

Cuadro 11 Comparación de la acidez del queso de poro con otros quesos.

<b>Queso</b>	<b>Acidez (% de ac. láctico)</b>	<b>Referencia</b>
Blanco duro tipo llanero	0.61 ± 0.32	Mendoza y Oyón, 2002
Mozarella	0.40 – 0.80	Hernández y Díaz, 2002
Cotija	0.70 ± 0.07	Morales <i>et al</i> , 2003
Crema	0.82	Ramos <i>et al</i> , 2005
Crema con probiótico	1.04	Ramos <i>et al</i> , 2005
De poro San Marquito (7 días)	2.30 ± 0.18	Acosta, 2009
De poro El tigre (7 días)	1.98 ± 0.21	Acosta, 2009
De poro Usumacinta (7 días)	2.02 ± 0.14	Acosta, 2009
De poro Bejucal (12 días)	0.629	En este estudio

Como parte del proceso inicial en la elaboración del queso de poro se agrega suero del día anterior, lo que permite agregar a la leche un inóculo con alta concentración de bacterias lácticas. Se ha reportado que las bacterias lácticas son una opción para inhibir el crecimiento de la flora patógena. La producción de ácido láctico por este tipo de microorganismos ha demostrado poseer efectos de conservación. El uso de cultivos microbianos protectores se está revelando como una opción de futuro para la conservación de alimentos crudos o moderadamente procesados (Parra, 2010).

Estudios recientes han evidenciado que algunos microorganismos compiten por el alimento y el espacio con patógenos, de modo que limitan enormemente su capacidad para alterar los alimentos. Las propiedades antimicrobianas de algunos tipos de bacterias han centrado el interés de multitud de investigadores en los últimos años. Como resultado, han surgido diversas estrategias de biocontrol para su aplicación en alimentos (Vásquez *et al.*, 2009).

El principio de acción de la bioconservación es relativamente sencillo. En una primera fase los microorganismos de biocontrol compiten por los nutrientes y el espacio con los pocos patógenos, de forma que al crecer en el alimento se produce la eliminación de estos microorganismos indeseables. Al mismo tiempo, algunos microorganismos tienen la capacidad para producir sustancias antimicrobianas, como es el caso de muchas bacterias lácticas, aspecto que limita la capacidad del patógeno para multiplicarse y alterar el alimento (Ramírez *et al.*, 2011).

Como consecuencia, los patógenos, además de haber inhibido su crecimiento, también ven mermada su presencia en términos cuantitativos. Aunque pudieran encontrarse colonias de patógenos, los modelos experimentales han evidenciado que estarían en un número tan bajo que no serían capaces de dar lugar a una infección alimentaria. En el caso de inocular o emplear microorganismos competidores, el efecto de inhibición se produce de una forma natural, por lo que no es necesario el lavado posterior (Vásquez *et al.*, 2009).

Las bacterias lácticas son generalmente reconocidas como GRAS, por su siglas en inglés (Generally recognized as safe) y tiene un papel importante en la preservación y fermentación de alimentos, además de mejorar la calidad higiénica en alimentos por inhibir la flora competitiva la cual incluye patógenos (Parra, 2010).

## 6 CONCLUSIONES

Se cuantificó la concentración de bacterias ácido lácticas en queso de poro con doce días de maduración. La concentración de bacterias ácido lácticas fue similar empleando dos medios de cultivo MRS y M17. Log 6.08 UFC/g con el medio M17 y Log 6.04 UFC/g con el agar MRS. Debido a la especificidad de los medios de cultivo, la microflora del queso de poro a los doce días de maduración está compuesta de una población de cocos y bacilos similar.

Dos bacterias ácido lácticas aisladas del queso de poro en medio MRS resistieron una concentración de pH 2.0 durante tres horas, e inhibieron dos bacterias patógenas; *Salmonella* sp y *Escherichia coli*. Además se cuenta con otras ocho cepas capaces de inhibir a uno de los dos patógenos evaluados. Se cuenta con 14 cepas aun no probadas contra otros patógenos.

La concentración de ácido láctico fue parecida en comparación con otros quesos similares. Estas características permiten el crecimiento de bacterias ácido lácticas con propiedades probióticas, así como la conservación del queso a temperatura ambiente.



## **7 RECOMENDACIONES**

Es importante la caracterización completa de una cepa probiótica para asegurar que su aplicación en la alimentación generará los beneficios propios de los probióticos. Se recomienda confirmar el género y la especie de las bacterias aisladas, así como continuar evaluando otras propiedades probióticas en las cepas seleccionadas, como la resistencia biliar y la sensibilidad a antibióticos. La resistencia a biliar es importante debido al paso de las bacterias por el tracto intestinal y es una característica importante en las bacterias probióticas, mientras que la sensibilidad a antibióticos es una propiedad relacionada con la seguridad del microorganismo. De igual manera se recomienda evaluar el efecto antagonista contra otras bacterias patógenas de importancia alimentaria, así como la producción de metabolitos antimicrobianos.

## 8 LITERATURA CITADA

- [1] Acosta, H. (2009). *Comportamiento de la flora microbiana asociada al proceso de maduración del queso de poro*. Tesis de la Licenciatura Ingeniería en Alimentos. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica Multidisciplinaria de los Ríos. Tenosique, pp 41.
- [2] Alvarado, C., Chacón, Z., Otoniel, J., Guerrero, B. y López, 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*, 17, 3, 301-308.
- [3] Alvarado- Rivas, C. y Díaz- Rivero, C. (2009). Estudio preliminar del potencial probiótico de lactobacilos aislados de pastizal de una finca lechera. *Rev Fac Farm.*, 51, 1, 8-14.
- [4] Álvarez, L. (2010). Bacterias lácticas como terapia alternativa para enfermedades inflamatorias intestinales. *REB*, 29, 1, 2-7.
- [5] Álvarez-Ordóñez, A., Fernández, A., López, M. y Bernardo, A. (2009). Relationship between membrane fatty acid composition and heat resistance of acid and cold stressed Salmonella Senftenberg CECT 4384. *Food Microbiology*, 26, 347-353.
- [6] Araque, C., Delgado, A., Armas, W., Albornoz, A., Espinosa, V. y Quijada, T. (2010). Márgenes de comercialización del queso artesanal de vaca en unidades de producción familiar en Tototremo, Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 28, 3, 413-420.
- [7] Araújo, E., De Carvalho, A., Leandro, E., Furtado, M. y De Moraes, C. (2010). Development of a symbiotic cottage cheese added with *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20 and inulin. *Journal of Functional Foods*, 2, 85-89.
- [8] Arribas, B., Rodríguez, M., Camuesco, D., Zarzuelo, A. Gálvez, J. (2008). Aplicaciones terapéuticas de los probióticos. *Ars Pharm*, 49, 1, 5-30.
- [9] Bolado-Martínez, E., Pérez-Morales, R. y Acedo-Félix, E. (2009). An alternative method for evaluation of resistance to low pH and bile salts in probiotic characterization of *Lactobacillus reuteri* strains: A technical note. *Rev. Cient. (Maracaibo)*, 19, 1, 93-96.
- [10] Boza, E., Morales, I. y Henderson, M. (2010). Desarrollo de un queso maduro con adición del cultivo probiótico *Lactobacillus paracasei* subsp. Paracasei LC-01. *Rev Chil Nutr.*, 37, 2, 215-223.
- [11] Britania. (s/a). M. R. S. agar. Hoja técnica 404. Ref. B0220505. Disponible en [http://www.britanialab.com/productos/404\\_hoja\\_tecnica\\_es.pdf](http://www.britanialab.com/productos/404_hoja_tecnica_es.pdf)

- [12] Carrillo-Inungaray, M. y Mondragón-Hernández, F. (2011). Estudio de vida útil del queso asadero. *Revista de Salud Pública y Nutrición RESPYN*, 12, 3.
- [13] Ceruti, R., Zorrilla, S., Sabbag, N., Costa., S. y Sihufe, G. (2014). Effect of increased initial ripening temperature on the sensory characteristics of Reggianito cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 67, 4, 539-546.
- [14] Cervantes, F., Villegas, A., Cesín A. y Espinoza A. (2006). *Los quesos mexicanos genuinos: un saber hacer que se debe rescatar y preservar*. En Memorias del III Congreso Internacional de la Red SIAL “Alimentación y Territorios”. Baeza, Jaen, España.
- [15] Chinellato, N., Blumer, P., Francisco, L., Cunha, J., Moreno, I., Fernandes, A. y Aparecida, D. (2013). Characterization of fresh cheese with addition of probiotics and prebiotics. *Journal of Life Sciences*, 7, 2, 189-195.
- [16] Corona, A. y Jiménez, R. (2004). Comparación de dos métodos de siembra para el recuento de microorganismos en muestras con alta concentración microbiana. *Revista de la Facultad de Ingeniería Química*, 40, 3-7.
- [17] Cruz, L. (2011). *Caracterización probiótica de una cepa nativa de Enterococcus faecium QPa.1 aislada de queso de elaboración artesanal*. Tesis de Biólogo con mención en Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas. Lima, Perú. pp 66.
- [18] Cueto, C. y Aragón, S. (2012). Evaluación del potencial probiótico de bacterias ácido lácticas para reducir el colesterol *in vitro*. *Scientia Agropecuaria*, 1, 45-50.
- [19] Cueto-Vigil, M., Acuña-Monsalve, Y. y Valenzuela-Riaño, J. (2010). Evaluación *in vitro* del potencial probiótico de bacterias ácido lácticas aisladas de suero costeño. *Actual Biol*, 32, 93, 129-138.
- [20] Dabiza, N. y El-Deib, K. (2007). Biochemical evaluation and microbial quality of Ras cheese supplemented with probiotic strains. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57, 3, 295-300.
- [21] De las Cagigas, A. y Blanco, J. (2002). Prebióticos y probióticos: una relación beneficiosa. *Revista Cubana Aliment Nutr.*, 16, 1, 63-68.
- [22] Delgado, M., Sáenz, C., Orozco-Morales, E., Gutiérrez-Méndez, N., Rivera-Chavira, B. y Nevárez-Moorillón, G. (2009). Caracterización bioquímica de bacterias lácticas aisladas

durante la maduración del queso Chihuahua. En Memorias del XIII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. México, D. F.

- [23] Díaz, J., Parra, V., Bendaño, T., Montes, P. y Solórzano, P. (2012). Utilidad del suplemento de probióticos (*Lactobacillus acidophilus* y *bulgaricus*) en el tratamiento del síndrome de intestino irritable. *Rev. Gastroenterol. Perú*, 32, 4, 387-393.
- [24] Domínguez-López, A., Villanueva-Carvajal, A., Arriaga-Jordán, C. y Espinoza-Ortega, A. (2010). Alimentos artesanales y tradicionales: el queso Oaxaca como un caso de estudio del centro de México. *Estudios Sociales*, 19, 38, 166-193.
- [25] Duary, R., Rajput, Y., Batish, V. y Grover, S. (2011). Assessing the adhesion of putative indigenous probiotic lactobacilli to human colonic epithelial cells. *Indian J Med Res.*, 134, 664-671.
- [26] Duran, L., Sánchez, C., Palmero, J., Chaparro, L., García, T. y Sánchez, E. (2010). Caracterización fisicoquímica y microbiológica de quesos de cabra en Carora, estado Lara, Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 28, 4, 467-475.
- [27] Edalatian, M., Habibi, M., Mortazavi, S., Nasiri, M., Basami, M. y Hashemi, M. (2010). Isolation and identification the indigenous lactic flora from Lighvan, as an iranian raw milk cheese from milk to ripened cheese. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 68, 1346-1351.
- [28] El-Diasty, E., Eleiwa, E. y Aideia, H. (2012). Using of chitosan as antifungal agent in Kariesh Cheese. *New York Science Journal*, 5, 9, 5-10.
- [29] El-Tanboly, E., El-Hofi, M., Abd-Rabou, N. y El-Desoki, W. (2010). Contribution of mesophilic starter and adjunct lactobacilli to proteolysis and sensory properties of semi hard cheese. *New York Science Journal*, 3, 10, 67-73.
- [30] Enciclopedia de los Municipios de Tabasco. Instituto Nacional para el Federalismo y Desarrollo Municipal. Villahermosa, Tabasco. Gobierno del Estado de Tabasco. 2006. pp 96.
- [31] Escobar, M., Van Tassell, M., Martínez-Bustos, F., Singh, M., Castaño-Tostado, E., Amaya-Llano, S. y Miller, M. (2012). Characterization of a Panela cheese with added probiotics and fava bean starch. *Journal of Dairy Science*, 95, 6, 2779-2787.
- [32] Fernández, A., Escalona, H., Espinosa, M., Jiménez, J. y García, M. (2011). *Selección y entrenamiento de jueces para la realización de perfiles descriptivos de queso poro de*

- Balancán*. En Memorias del XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería. Querétaro, Querétaro.
- [33] Fernández, F. y Rodríguez, A. (2005). Queso probiótico, un ejemplo de queso funcional. *Mundo Lácteo y Cárnico*, Mayo-Junio, 19-23.
- [34] Flimelová, E., Kňazovická, V., Čanigová, M. y Benczová, E. (2013). Changes in quality of fresh cheese using dressing with and without probiotic culture during storage. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 61, 1, 51-57.
- [35] Gamazo C., López-Goñi, I. y Díaz, R. (2005). *Manual Práctico de Microbiología*. Tercera Edición. Editorial Masson. Barcelona, pp 69.
- [36] Geria, M., Dambrosio, A., Normanno, G., Lorusso, V. y Caridi, A. (2014). Antagonistic activity of dairy lactobacilli against gram-foodborne pathogens. *Acta Scientiarum. Technology*, 36, 1, 1-6.
- [37] Gomes, M., Fernandes, E., Ramos, R. y De Souza, L. (2012). Technological, physicochemical and sensory characteristics of a Brazilian semi-hard goat cheese (coalho) with added probiotic lactic acid bacteria. *Sci. Agric.*, 69, 6, 370-379.
- [38] González, L. (2013). Caracterización de las bacterias lácticas aisladas del queso Genestoso: identificación, aptitud tecnológica y actividad antimicrobiana. Tesis doctoral del Dpto. Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad de León. León, pp 142.
- [39] González, A. y Torres, R. (2013). Resistencia a sales biliares sintéticas de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico aisladas de queso Cotija. En Memorias del Primer Encuentro de Jóvenes investigadores, CONACYT, Octavo Coloquio Estatal y Cuarto Encuentro Nacional de Jóvenes Talentos en la Investigación. Universidad Autónoma de Guerrero, CONACYT. Acapulco.
- [40] González, F. y González-Martínez, B. (2006). Criterios de calidad de los microorganismos probióticos y evidencias sobre efectos hipocolesterolémicos. *Revista Salud Pública y Nutrición, RESPIN*, 7, 1.
- [41] Granados, C., Urbina, G. y Acevedo, D. (2010). Tecnificación, caracterización fisicoquímica y microbiológica del queso de capa de Mompox Colombia. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 8, 2, 41-45.

- [42] Grattepanche, F., Miescher-Schwenninger, S., Meile, L. y Lacroix, C. (2008). Recent developments in cheese cultures with protective and probiotic functionalities. *Dairy Sci. Technol.*, 88, 421-444.
- [43] Gutiérrez, L., Gómez, A., Arias, L. y Tangarife, B. (2007). Evaluación de la viabilidad de una cepa probiótica nativa de *Lactobacillus casei* en queso crema. *Revista Lasallista de Investigación*, 4, 2, 37-42.
- [44] Gutiérrez, M., Bernardo, A., González, J., Martín, R., Carballo, J. y Vidal, M. (1988). Evolución de los principales grupos de microorganismos durante la elaboración y maduración del queso de Valdeteja. *Anales de la Facultad de Veterinaria de León*, 34, 34, 119-126.
- [45] Hamid, M. y Abulfazl, B. (2012). Isolation and molecular study of potentially probiotic lactobacilli in traditional white cheese of Tabriz in Iran. *Annals of Biological Research*, 3, 4, 2019-2022.
- [46] Hernández, C., Hernández, A., Villegas, A. y Aguirre, E. (2011). El proceso socio-técnico de producción de Queso Añejo de Zacazonapan, Estado de México. *Rev Mex Cienc Pecu*, 2, 2, 161-176.
- [47] Hernández-Cervantes, M., López-Velázquez, J., Gómez-Alvarado, T., Santiago-Cabrera, R., Ramón-Canul, L., Delgado-Vidal, F., Shain-Mercado, A., Huante-González, Y. y Ramírez-Rivera, E. (2010). Comparación de la descripción sensorial del queso fresco “cuajada” mediante el análisis descriptivo cuantitativo y el perfil flash. *Ciencia y Mar*, 14, 42, 3-12.
- [48] Hernández, P. y Díaz, E. (2002). Elaboración de queso mozzarella a partir de leche de *Bubalus bubalis* (ganado bubalino). *Revista Amazónica de Investigación Alimentaria*. 2, 2, 19-30.
- [49] Izquierdo, P., Allara, M., Torres, G., García, A., Barboza, Y. y Piñero, M. (2003). Histamina en quesos madurados: manchego, parmesano y de año. *Revista Científica, FCV-LUZ*, 13, 6, 431-435.
- [50] Jain, P. y Sharma, P. (2012). Probiotics and their efficacy in improving oral health: A review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2, 11, 151-163.
- [51] Jamaly, N., Benjouad, A. y Bouksaim, M. (2011). Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from known popular traditional moroccan dairy products. *British Microbiology Research Journal*, 1, 4, 79-94.

- [52] Jokovic, N., Vukasinovic, M., Veljovic, K., Tolinacki, M. y Topisirovic, L. (2011). Characterization of non-starter lactic acid bacteria in traditionally produced home-made cheese during ripening. *Arch. Biol. Sci.* 63, 1, 1-10.
- [53] Karimi, R., Mortazavian, A. y Gomes, A. (2011). Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: a review. *Dairy Sci. & Technol.*, 91, 283-308.
- [54] Karimi, H. y Nikmaram, P. (2011). Assessment of the growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture and storage of iranian white cheese and probiotic cheese. *Global Veterinaria*, 6, 3, 228-232.
- [55] Khalesi, S., Sun, J., Buys, N. y Jayasinghe, T. (2014). Effect of probiotics on blood pressure, a systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials. *Hypertension*, 64, 1-7.
- [56] Knox, A., Viljoen, B. y Lourens-Hattingh, A. (2005). Inhibition of *Brevibacterium linens* by probiotics. *Food Technol. Biotechnol.*, 43, 4, 393-396.
- [57] Larios, E. (2007). *Caracterización de la microflora del queso tipo oaxaca y su capacidad antimicrobiana*. Tesis de Ingeniería en Alimentos del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Tulancingo de Bravo, Hidalgo. pp 69.
- [58] Liladhar, P. y Parag, P. (2012). Assessment of probiotic potential of *Lactobacillus* sp. isolated from cheese and preparations of probiotic ice-cream. *IJRAP*, 3, 4, 532-536.
- [59] Mahmoud, S., El-Halmouch, Y. y Montaser, M. (2013). Effect of probiotic bacteria on Karish Cheese production. *Life Science Journal*, 10, 2, 1279-1284.
- [60] Manjarrez, B., Hernández, S., De Jong, B., Nahed, J., De Dios, O. y Salvatierra, E. (2007). Configuración territorial y perspectivas de ordenamiento de la ganadería bovina en los municipios de Balancán y Tenosique, Tabasco. *Investigaciones Geográficas, Boletín del Instituto de Geografía*, 64, 90-115.
- [61] Manzano, C., Estupiñán, D. y Poveda, E. (2012). Efectos clínicos de los probióticos: qué dice la evidencia. *Rev Chil Nutr.*, 39, 1, 98-110.
- [62] Martín del Campo, C., Gómez, H. y Alaníz, R. (2008). Bacterias ácido lácticas con capacidad antagonica y actividad bacteriocinogénica aisladas de quesos frescos. *e-Gnosis*, 6, 1-17.

- [63] Martínez, A., Villoch, A., Ribot, A. y Ponce, P. (2013). Evaluación de la calidad e inocuidad de quesos frescos artesanales de tres regiones de una provincia de Cuba. *Rev. Salud Anim.*, 35, 3, 210-213.
- [64] Mayorga-Reyes, L., Azaola-Espinosa, A. y Gutiérrez-Nava, A. (2010). Revisión bibliográfica. Probióticos y su potencial en la prevención del cáncer de colon. *ContactoS*, 77, 10-15.
- [65] Mazzeo, M., Díaz, F., Pérez, L., León, L., Castaño, A. y Jaramillo, A. (2009). Desarrollo de procesos productivos de quesos madurados en tres municipios del departamento de Caldas. *Revista Ingeniería e Investigación*, 29, 3, 42-47.
- [66] Medved'ová, A., Liptáková, D., Hudecová, A. y Valík, L. (2008). Quantification of the growth competition of lactic acid bacteria: a case of co-culture with *Geotrichum candidum* and *Staphylococcus aureus*. *Acta Chimica Slovaca*, 1, 1, 192-207.
- [67] Melgar-Lalanne, G., Rivera-Espinoza, Y., Farrera-Rebollo, R., Hernández-Sánchez, H. (2014). Survival under stress of halotolerant lactobacilli with ptobiotic properties. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 13, 1, 323-335.
- [68] Mendoza, C. y Oyón, R. (2002). Estudio comparativo de dos coberturas para queso llanero madurado. *Rev. Fac. Agron.*, 28, 1-11.
- [69] Miočinović, J., Radulović, Z., Paunović, D., Miloradović, Z., Trpković, G., Radovanović, M. y Pudja, P. (2014). Properties of low-fat ultra-filtered cheeses produced with probiotic bacteria. *Arch. Biol. Sci., Belgrade*, 66, 1, 65-73.
- [70] Mojarad, S. y Ganbarov, K. (2014). Lactobacillus with probiotic potential from homemade cheese in Azerbaijan. *BioImpacts*, 4, 1, 49-52.
- [71] Monroy, M., Castro, T., Fernández, F. y Mayorga, L. (2009). Revisión bibliográfica: Bacteriocinas producidas por bacterias probióticas. *Contactos*, 73, 63-72.
- [72] Morales, J., Cassís, L. y García, L. (2003). Elaboración de un queso tipo "cotija" con base en una mezcla de leche y garbanzo (*Cicer arietinum* L.). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 53, 2.
- [73] Mortazavi, S. y Akhlaghi, N. (2012). Salivary Streptococcus mutans and Lactobacilli levels following probiotic cheese consumption in adults: A double blind randomized clinical trial. *J Res Med Sci.*, 17, 1, 57-66.



- [74] Navarrete, C. (2007). *Efecto del cultivo probiótico Lactobacillus paracasei subsp.paracasei sobre la maduración de Gauda reducido en grasa*. Tesis de Licenciado en Ciencias de los Alimentos. Escuela de Ingeniería en Alimentos de la Universidad Austral de Chile. Valdivia, pp 79.
- [75] Navarro, J. (2011). Efecto del uso de probióticos en el manejo de la enfermedad diarreica aguda. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*, 58, 599, 407-410.
- [76] Norma Oficial Mexicana NOM-121-SSA1-1994. Bienes y servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias.
- [77] NMX-F-099-1970. Método de prueba para la determinación de pH en quesos procesados. Normas mexicanas. Dirección general de normas.
- [78] NMX-F-206-1986. Alimentos lácteos. Determinación de acidez expresada como ácido láctico en leche en polvo. Food lacteous. Acidity expressed as lactic acid in powder milk determination. Normas mexicanas. Dirección general de normas.
- [79] MNX-F-444-1983. Alimentos. Yoghurt o leche búlgara. Foods. Yoghurt of bugarian milk. Normas mexicanas. Dirección genral de normas.
- [80] Obando, M., Brito, C., Schöbitz, R., Baez, L. and Horzella, M. (2010). Viabilidad de los microorganismos probióticos *Lactobacillus casei* 01, *Lactobacillus acidophilus* La-5, *Bifidobacterium* BB12 durante el almacenamiento de queso Cottage. *VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*, 17, 2, 141-148.
- [81] Olagnero, G., Abad, A., Bendersky, S., Genevois, C., Granzella, L. y Montonati, M. (2007). Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos. *DIAETA (B. Aires)*, 25, 121, 20-33.
- [82] Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentos y la Organización Mundial de la Salud, FAO/OMS. (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. Food and Agriculture Organization. Disponible en: [http://www.who.int/foodsafety/fs\\_management/en/probiotic\\_guidelines.pdf](http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf).
- [83] Ortiz, M. (2006). Identificación bioquímica de bacterias ácido lácticas aisladas a partir de productos lácteos en el estado de Hidalgo. Tesis de Químico en Alimentos del Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería y Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca de Soto, Hidalgo. pp 81.

- [84] Parra, R. (2010). Review. Bacterias ácido lácticas: papel funcional en los alimentos. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 8, 1, 93-105.
- [85] Pérez, F. (2012). *Caracterización de parámetros físico-químicos y calidad microbiológica del queso de poro del municipio de Balancán, Tabasco, México*. Tesis de la Maestría Producción Agroalimentaria en el Trópico. Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco. Cárdenas, pp 57.
- [86] Pérez, F. y Bucio, A. (2010). Microbial safety of raw milk cheeses traditionally made at a pH below 4.7 and with other hurdles limiting pathogens growth. Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. A. Méndez-Vilas (Ed.). 1205-1216. Formatex, España.
- [87] Poméon, T. y Cervantes, F. (2010). El sector lechero y quesero en México de 1990 a 2009: entre lo global y local. Reporte de Investigación, 89, 1-47.
- [88] Queso de Poro Genuino de Balancán. (2009). Queso de Poro, un producto genuino: logros y perspectivas. *Diálogos*, 31, 22-28.
- [89] Ramírez-Baca, P., García-Cansino, B., Moreno-Hernández, E., Ríos-Carmona, J., Rodríguez-Cisneros, C., Vásquez-Arroyo, J., Rodríguez-Martínez, R., Esparza-González, S. y Nevárez-Morrillón, G. (2009). Morfología y diferenciación de colonias de tres tipos de bacterias lácticas. *Revista Agraria Nueva Época*, 6, 6, 1-3, 14-18.
- [90] Ramírez, J., Rosas, P., Velázquez, M., Ulloa, J. y Arce, F. (2011). Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Revista Fuente*, 2, 7, 1-16.
- [91] Ramírez-Nolla, S. y Vélez-Ruiz, J. (2012). Queso Oaxaca: panorama del proceso de elaboración, características fisicoquímicas y estudios recientes de un queso típico mexicano. *Temas Selectos de Ingeniería en Alimentos*, 6, 1, 1-12.
- [92] Ramos, L., Gallardo, Y., Ortega, O., Del Real, E. y Paz, T. (2005). *Elaboración de queso crema probiótico (L. casei), bajo en grasa, adicionado con inulina y saborizado*. Memorias del VII Congreso Nacional de Ciencia de los Alimentos y III Foro de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guanajuato, Guanajuato, México. p 55-62.
- [93] Ramos-Clamont, G., Hernández-González, L., Fernández-Michel, S., Froto-Madariaga, M. y Vázquez-Moreno, L. (2012). Estrategias para mejorar la sobrevivencia de probióticos en helados. *Biocencia*, 15, 2, 31-38.

- [94] Ramos-Izquierdo, B., Bucio-Galindo, A., Bautista-Muñoz, C., Aranda-Ibáñez, E. e Izquierdo-Reyes, F. (2009). Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias ácido lácticas para la elaboración de queso crema tropical. *Universidad y Ciencia*, 25, 2, 159-171.
- [95] Rather, S., Pothuraju, R., Sharma, R., De, S., Amir, N., y Jangra, D. (2014). Anti-obesity effect of feeding probiotic dahi containing *Lactobacillus casei* NCDC 19 in high fat diet-induced obese mice. *International Journal of Dairy Technology*, 67, 4, 504-509.
- [96] Romero-Castillo, P., Leyva-Ruelas, G., Cruz-Castillo, J. 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, 1, 111-119.
- [97] Rondón, A., Samaniego, L., Bocourt, R., Rodríguez, S., Milián, G., Ranilla, M., Laurencio, M. y Pérez, M. (2008). Aislamiento, identificación y caracterización parcial de las propiedades probióticas de cepas de *Lactobacillus* sp. procedentes del tracto gastrointestinal de pollos de ceba. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 6, 1, 56-63.
- [98] Rosado-Zarrabal, T., Corzo-González, H., Morales-Fernández, S., Velázquez-Méndez, A. y Wong-Villarreal, A. (2013). Caracterización fisicoquímica de quesos étnicos del estado de Chiapas. *CienciaUAT*, 26, 2, 06-10.
- [99] Rosenblatt, J. y Stewart, P. (1975). Anaerobic bag culture method. *Journal of Clinical Microbiology*. 1, 6, 527-550.
- [100] Sabbagh, N., Gheisari, H. y Aminlari, M. (2010). Monitoring the chemical and microbiological changes during ripening of iranian probiotic low-fat white cheese. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 5, 4, 249-257.
- [101] Salazar, B. y Montoya, O. (2003). Importancia de los probióticos y prebióticos en la salud humana. *Vitae*, 10, 2, 20-26.
- [102] Sánchez, I. (2014). Guerra de quesos: artesanal vs. industrial. En Sección Reportajes. *Revista Appetit*. 11 de julio de 2014.
- [103] Sánchez, L. y Tromps, J. (2014). Caracterización in vitro de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico. *Rev. Salud Anim.*, 36, 2, 124-129.
- [104] Shahab, A. (2013). Production of probiotic traditional Lighvan cheese. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 4, 1, 302-310.
- [105] Shahab, R. y Ehsani, M. (2012). Effect of *Bifidobacterium lactis* on free fatty acids of Lighvan cheese during ripening. *Journal of Medical and Bioengineering (JOMB)*, 1, 1, 4-6.

- [106] Sharafedinov, K., Plotnikova, O., Alexeeva, R., Sentsova, T., Songisepp, E., Stsepetova, J., Smidt, I. y Mikelsaar, M. (2013). Hypocaloric diet supplemented with probiotic cheese improves body mass index and blood pressure indices of obese hypertensive patients - a randomized double-blind placebo-controlled pilot study. *Nutrition Journal*, 12, 138, 1-11.
- [107] Sepúlveda, J., Londoño, M. y Hernández A. (2010). Desarrollo de quesos frescos con la adición del cultivo probiótico *Lactobacillus casei*. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 20, 3, 11-16.
- [108] Solís, A., Martínez, R., Solorio, J., Estrada, J., Avilés, F., Gutiérrez, A. y Castelán, O. (2013). Características del queso Tepeque de la tierra caliente de Michoacán: un queso producido en un sistema silvopastoral intensivo. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 16, 201-214.
- [109] Soriano, G., Sánchez, E. y Guarner, C. (2013). Probióticos en las enfermedades hepáticas. *Nutr Hosp.*, 28, 558-563.
- [110] Sparo, M., Corso, A., Gagetti, P., Delpech, G., Ceci, M., Confalonieri, A., Urbizu, L. y Sánchez, S. (2012). *Enterococcus faecalis* CECT712: Biopreservation of ceafted goat cheese. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, 7, 3-4, 145-152.
- [111] Suárez, J. (2008). *Aislamiento e identificación de bacterias ácido lácticas a partir de leche cruda y queso Paipa elaborado en los municipios de Pacho (Cundinamarca) y Belén (Boyaca)*. Tesis de Zootecnista de la Facultad de Zootecnia de la Universidad de la Salle. Bogotá, D. C. pp 86.
- [112] Suárez-Solís, V., Núñez, M. y Fernández, A. (2008). Queso fresco probiótico de leche de búfala. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 18, 1, 42-45.
- [113] Sulejmani, E., Rafajlovska, V., Güneşer, O., Karagül-Yüceer, Y. y Hayaloglu, A. (2014). Volatile compounds and proteolysis in traditional Beaten (Bieno sirenje) ewe's milk cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 67, 4, 584-593.
- [114] Tharmaraj, N. y Shah, N. (2009). Antimicrobial effects of probiotics against selected pathogenic and spoilage bacteria in cheese-based dips. *International Food Research Journal*, 16, 261-276.
- [115] Terzic-Vidojevic, A., Mihajlovic, S., Uzelac, G., Veljovic, K., Tolinacki, M., Nikolic, M., Topisirovic, L. y Kojic, M. (2014). Characterization of lactic acid bacteria isolated from

artisanal Travník young cheeses, sweet creams and sweet kajmaks over four seasons. *Food Microbiology*, 39, 27-38.

- [116] Torres, M. y Acosta, R. (2005). Agroindustria láctea en México. Empresas líderes y patentes. Disponible en <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/14926/Agroindustria%20L%C3%A1ctea%20en%20M%C3%A9xico.%20Empresas%20L%C3%ADderes%20y%20Patentes.pdf?sequence=1>.
- [117] Tortora, G., Funke, B. y Case, C. (2007). *Introducción a la Microbiología*. 9a. Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. pp 938.
- [118] Tsai, C-C., Hsieh, H-Y., Chiu, H-H., Lai, Y-Y., Liu, J-H. y Yu, B. (2005). Antagonistic activity against *Salmonella* infection *in vitro* and *in vivo* for two *Lactobacillus* strains from swine and poultry. *International Journal of Food Microbiology*, 102, 2, 185-94.
- [119] Vallejo, M., Etchehoury, V., Horiszny, C. y Marguet, E. (2009). Inhibición de *Escherichia coli* O157:H7 por cepas de *Lactobacillus* aisladas de queso ovino. *Analecta Veterinaria*, 29, 1, 15-19.
- [120] Vallejo, M., Marguet, E. y Etchehoury, V. (2008). Potencial probiótico de cepas de *Lactobacillus* aisladas de quesos ovinos patagónicos. *Revista Salud Pública y Nutrición, RESPYN*, 9, 4.
- [121] Vasek, O., Mazza, S. y Giori, G. (2013). Physicochemical and microbiological evaluation of corrientes artisanal cheese during ripening. *Food Sci. Technol, Campinas*, 33, 1, 151-160.
- [122] Vásquez, S., Suárez, H. y Zapata, S. (2009). Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. *Rev. chil. nutr.* 36, 1, 64-71.
- [123] Villanueva, M. (2010). Frecuencia de *Brucella* sp, *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157:H7 en quesos frescos sin pasteurizar colectados en la zona conurbada Veracruz-Boca del Río. Tesis de Maestro en Ciencia Animal. Universidad Veracruzana. Veracruz. pp. 86.
- [124] Villegas, A. (2004). Tecnología quesera. México, Editorial Trillas, S. A.
- [125] Villegas, A. y Cervantes, F. (2011). La genuinidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales mexicanos. *Estudios Sociales*, 19, 38, 145-164.

- [126] Villegas, A., Hernández, A. y Santos, A. (2010). El queso crema de Chiapas: un acercamiento a su caracterización. *Claridades Agropecuarias*, 206, 33-38.
- [127] Vinderola, G., Prosello, W., Ghiberto, D., Médici, M., Perdigón, G. y Reinheimer, J. (2008). *Desarrollo del bioqueso Ilolay Vita: el primer queso probiótico de Latinoamérica con alta respuesta sobre el sistema inmune*. En Memorias de la Segunda Jornada RedVITEC. Paraná.
- [128] Yang, E., Fan, L., Jiang, Y., Doucette, C. y Fillmore, S. (2012). Antimicrobial activity of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from cheeses and yogurts. *AMB Express*, 2, 48, 1-12.
- [129] Yescas, C. y Santacruz, J. (2013). *Larousse Quesos Mexicanos*. Larousse. México, D. F.

## 9 ANEXO

### 9.1 Anexo 1. Participación en evento científico internacional.

Recino, B., Ortiz, M., González, N. y Jiménez, R. (2014). Evaluación del queso de poro artesanal como alimento funcional probiótico. En Memorias del VII Simposio Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos “Dr. Mario Yanes García”. Villahermosa.

The certificate is issued by the Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica de Ciencias Agropecuarias. It recognizes Blanca Rosa Recino Metelín, Mateo Ortiz Hernández, Nicolás González Cortés, and Román Jiménez Vera as exhibitors for their participation in the poster titled "Evaluación del queso de poro artesanal como alimento funcional probiótico". The event took place in Villahermosa, Tabasco, Mexico, from October 22 to 24, 2014. The certificate is signed by Dr. Roberto Flores Bello, Director of the D.A.C.A., and Dra. Eloísa López Hernández, President of the Organizing Committee. The certificate features the logos of the organizing institution and several partner organizations, including RIFI, Consorcio de Universidades Mexicanas, CCYTET, OCV TABASCO, Tabasco cambia contigo, SEDAPOP, UCAM, Universidad de Antioquia, sureña, and BROCA Y ABREU.

**UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO**  
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**VII Simposio Internacional**  
de Ciencia y Tecnología de Alimentos  
"Dr. Mario Yanes García"

México España E. U. Colombia Argentina

**Constancia**

**A: Blanca Rosa Recino Metelín, Mateo Ortiz Hernández, Nicolás González Cortés, Román Jiménez Vera\***

Por su participación como

**EXPOSITORES**

Del CARTEL "Evaluación del queso de poro artesanal como alimento funcional probiótico".

**Dr. Roberto Flores Bello**  
Director de la D.A.C.A.

Villahermosa, Tabasco, México. 22 al 24 de Octubre de 2014.

**Dra. Eloísa López Hernández**  
Presidenta del Comité Organizador

RIFI  
PROGRAMA FEDERAL DE FORTALECIMIENTO INSTITUCIONAL  
POR LA INICIATIVA Y PARTICIPACIÓN DE LA UNIVERSIDAD TABASCO

Consorcio de  
Universidades  
Mexicanas  
UNA ALIANZA DE CALIDAD PARA LA EDUCACIÓN SUPERIOR

CCYTET

OCV  
TABASCO

Tabasco  
cambia contigo

SEDAPOP

UCAM

UNIVERSIDAD  
DE ANTIQUÍA

sureña

BROCA Y ABREU  
D.A.C.A.