



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS CÓRDOBA

MAESTRÍA TECNOLÓGICA EN AGROINDUSTRIA

**CARACTERIZACIÓN DE LA LECHE Y DEL QUESO DE CABRA, DE TRES
QUESERIAS DEL VALLE DEL SALADO DEL ESTADO DE PUEBLA**

CECILIA ORTEGA HERRERA

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA TECNOLÓGICA

AMATLÁN DE LOS REYES, VERACRUZ

2015

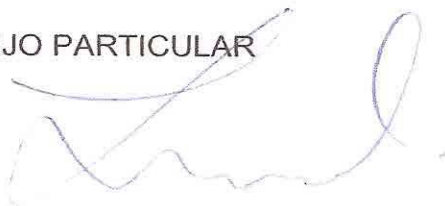
La presente tesis titulada: *Caracterización de la leche y del queso de cabra de tres queserías del Valle del Salado del Estado de Puebla*, realizada por la alumna **Cecilia Ortega Herrera**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRÍA TECNOLÓGICA

EN AGROINDUSTRIA

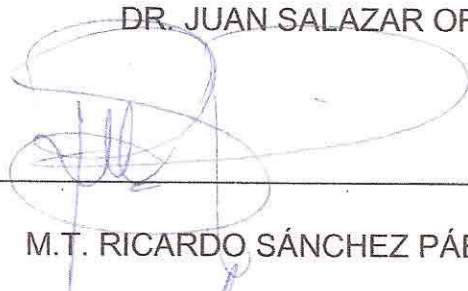
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



DR. JUAN SALAZAR ORTIZ

ASESOR:



M.T. RICARDO SÁNCHEZ PÁEZ

ASESOR:



DR. JUAN VALENTE HIDALGO CONTRERAS

DEDICO ESTA TESIS A:

Dios por darme el regalo más grande que es la vida, por haberme dado la sabiduría, el entendimiento y la fortaleza para salir adelante en los días de oscuridad e incertidumbre, por sostener mi mano en cada tropiezo, sin dejarme caer al vacío y por darme la oportunidad de llegar a este momento.

A mis hermanas Sonia, Diana, Mariana y mis hermanos Luis Donaldo y Juan Pablo que han sido la fuente de apoyo constante e incondicional a lo largo de mis duros años de carrera profesional, quienes han sido mis más grandes motores los que me han impulsado para ser un ejemplo, como hermana mayor.

A mis padres Mercedes Herrera G. y Donaldo Ortega D. quienes supieron guiarme siempre por el camino del bien y del éxito, por enseñarme lo bueno y malo que hay en este mundo y sobre todo por apoyarme en cada etapa de mi vida; me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, mi coraje para lograr mis metas; a ustedes por siempre mi cariño y agradecimiento, ya que sin su constante sacrificio y motivación no sería la mujer más dichosa y plena que hoy en día soy; los amo.

A ti mi amor, por nunca dejar de creer en mí; a través de tu inmenso amor incondicional has sabido ser mi amigo y compañero inseparable, fuente de sabiduría, calma y consejo día a día. Gracias a tu apoyo y comprensión que me has brindado estos años, hoy hemos alcanzado un triunfo más, porque los dos somos uno solo y mis logros son también tuyos. Gracias por enseñarme que aún en la tormenta hay una luz que ilumina mi camino para seguir adelante. Y por sostener mi mano aun en la oscuridad por si uno resbala y pudiera caer el otro lo sostiene, juntos por siempre. ¡Te amo Fer!

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Tecnológico Superior de Libres, por darme el apoyo necesario para escalar un peldaño más en mi vida profesional.

A los maestros del colegio de Posgraduados por las enseñanzas y dedicaciones y sobre todo un agradecimiento a mis revisores Dr. Juan Salazar, Mtro. Ricardo Páez y al Dr. Juan Valente Hidalgo por la dedicación y empeño que pusieron en mi trabajo, ya que sin ustedes, el camino que estoy por terminar hubiera sido más difícil.

Y por último no quiero perder la oportunidad para dar las gracias al Ing. Oscar Ortigoza y a Yanet López que aparte de haber sido compañeros en el estudio y en el trabajo son unos grandes amigos, Ing. Oscar le agradezco infinitamente su paciencia y esfuerzo constante que mostro cada quince días durante más de un año, por ser nuestro compañero y protector durante nuestros viajes a la esc. Sabe que lo considero como un grande amigo y que mi cariño, respeto y agradecimiento será por siempre. A ti Yanet porque aprendí a conocerte más, porque me permitiste vivir cosas únicas en tu espera por Andrea, gracias por darme esa oportunidad y por ser una gran amiga, me demostraste que nunca hay que darse por vencida, ya que aún en los momentos más difíciles sale la fuerza suficiente para salir adelante, te quiero mucho y quiero que lo sepas, estoy infinitamente agradecida con las dos personas que atravesaron este largo y pesado camino junto a mí.

CARACTERIZACIÓN DE LA LECHE Y DEL QUESO DE CABRA, DE TRES QUESERIAS DEL VALLE DEL SALADO DEL ESTADO DE PUEBLA

Cecilia Ortega Herrera, MT.

Colegio de Postgraduados, 2014

La vida de anaquel del queso fresco de Aro de Alchichica en la cuenca del Valle del Saldo, Puebla, es de cinco días en promedio. Esto puede atribuirse a la contaminación cruzada como consecuencia de las deficiencias de manejo en la ordeña; lo que limita la comercialización del producto a otras regiones. Por tanto el objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad de la leche de cabra y su proceso de transformación en queso de Aro en la cuenca del Valle del Salado, Puebla. Esta investigación fue realizada a tres hatos-queserías caprinos lecheros de la zona de Alchichica, mismos que fueron seleccionados por su volumen y participación en la producción de leche de la región. Se asistió a la ordeña en cada uno de los hatos-queserías y se tomaron muestras en frascos estériles, las cuales fueron analizadas fisicoquímica y microbiológicamente. Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza con el programa estadístico SAS (2003). El análisis de los resultados fisicoquímicos muestran que el contenido promedio de grasa en las tres queserías fue de 5.7% para leche de cabra). Por otro lado comparando los resultados de grasa y proteína con la NMX-F-700-COFOCALEC-2012, la leche se clasificó como tipo A. De igual forma se puede destacar que las tres queserías son estadísticamente similares en su contenido de lactosa y proteína, pero diferentes en minerales, esto puede atribuirse a la alimentación es similar en la quesería uno y dos siendo esta por pastoreo y los animales son ordeñados por la mañana a diferencia de la quesería tres que su alimentación es semiestabulada y se ordeña por la tarde.

Con respecto a los resultados microbiológicos el conteo de células somáticas de las tres queserías son iguales, clasificando así la leche como clase 1 de acuerdo a la NMX-F-700-COFOCALEC-2012 con un conteo < a 400000 CS/mL, así

también con respecto a los resultados de resazurina la norma clasifica a la leche de calidad regular, por la coloración presentada. Por otro lado, el conteo microbiológico de coliformes totales y bacterias mesofílicas aerobias de la quesería tres es estadísticamente diferente a la quesería uno y dos tanto en la leche como en el queso. Se concluye a que las prácticas de manejo en la ordeña, son reflejadas en el queso de Aro, lo que da pauta a la implementación de buenas prácticas de ordeño y manufactura, en las diferentes queserías, para garantizar un queso de Aro de calidad y al mismo tiempo la extensión en la vida de anaquel de este queso fresco .

Palabras claves: Leche de cabra, Queso de cabra, Análisis fisicoquímico, Análisis microbiológico, Puebla.

CHARACTERIZATION OF MILK AND GOAT CHEESE, THREE VALLEY QUESERIAS SALTY STATE OF PUEBLA

Cecilia Ortega Herrera, MT.

Colegio de Postgraduados, 2014

The shelf life of the hoop cheese in Alchichica Puebla is 5 days on average .This can be attributed to cross-contamination which could be achieved through poor management practices milking, consequently prevents marketing extends product. Therefore, the objective of this work is to evaluate the quality of goat milk and its transformation into cheese in the basin of the Salado Valley, Puebla. This study was conducted in three dairy herds Alchichica area, they were selected for their outstanding participation in the production of milk in the region. He attended the milking time in each of the dairies and samples were taken in sterile vials, which were analyzed for physicochemical and microbiological way. Obtained results were evaluated by analysis of variance stockings with SAS statistical software (2003). Physicochemical analysis results show that the fat content in cheese dairies 3 is greater than 4.5%, on the other hand comparing the results of fat and protein with NMX-F-700-COFOCALEC-2012, the milk may be classified as type A. In the same way you can highlight that dairies 1 and 2 are statistically equal in their chemical content, this can be attributed to leading a similar power being this by grazing and are milked in the morning unlike their diet cheese 3 It is semiestabulada and afternoon milking. Whith regard to the microbiological results somatic cell count of the 3 dairies are equal, thus classifying milk as Class 1 according to the NMX-F-700-COFOCALEC-2012 with a count <400000 CS/mL, well with respect to the results of resazurin standard classifies regular milk quality, by coloring presented, on the other hand the microbiological count of total coliforms and total count of the cheese 3 is statistically different from the cheese. Therefore it is concluded that management practices in milking, are reflected in the processed product, which gives milking practices and manufacturing in the various dairies, to ensure a quality product while the extent shelf life of cheese hoop.

Keywords: Goat milk, Goat Cheese, physicochemical analysis, microbiological analysis, Puebla

CONTENIDO		Página
1.	INTRODUCCIÓN.....	1
2.	GENERALIDADES DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
2.1.	Planteamiento del problema.....	3
2.2.	Objetivos.....	4
	2.2.1. Objetivo General.....	4
	2.2.2. Objetivos Específicos.....	4
2.3.	Hipótesis.....	4
3.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
3.1.	La caprinocultura en México.....	5
3.2.	La cabra.....	6
	3.2.1. Clasificación de razas caprinas.....	6
	3.2.2. Razas de caprinos más difundidas.....	7
3.3.	Producción anual estatal de leche caprina.....	10
3.4.	Ubicación geográfica de San José Alchichica, Puebla (El salado).....	11
3.5.	Sistemas de producción.....	13
3.6.	La leche.....	14
3.7.	Composición química de la leche.....	15
	3.7.1. Proteínas de la leche.....	16
	3.7.1.1. Caseína.....	16
	3.7.2. Grasas de la leche.....	17
	3.7.2.1. Importancia de los ácidos grasos.....	17
	3.7.3. Lactosa.....	18
	3.7.4. Agua.....	19
	3.7.5. Enzimas.....	19
3.8.	Propiedades físicas de la leche de cabra.....	20
	3.8.1. Color.....	20
	3.8.2. Sabor.....	21
	3.8.3. Olor.....	21
	3.8.4. Temperatura.....	21

3.8.5.	Densidad o peso específico.....	21
3.8.6.	Acidez.....	22
3.8.7.	Punto de congelación.....	22
3.8.8.	Viscosidad.....	22
3.8.9.	pH.....	23
3.8.10.	Tensión superficial.....	23
3.9.	Pruebas fisicoquímicas de la leche.....	23
3.9.1.	Células somáticas.....	24
3.9.2.	Equipo ultrasónico lactoscan.....	25
3.9.3.	Definición y métodos para determinar pH.....	27
3.9.4.	Acidez titulable.....	27
3.9.5.	Reducción de resazurina.....	27
3.10.	Calidad microbiológica.....	28
3.10.1.	Microorganismos índices e indicadores.....	29
3.10.2.	Bacterias entéricas indicadoras (fam, <i>enterobacteriaceae</i>).....	29
3.10.3.	Coliformes.....	31
3.10.4.	Coliformes totales.....	31
3.10.5.	Coliformes fecales.....	31
3.10.6.	<i>Escherichia coli</i>	32
3.10.7.	<i>Salmonella sp</i>	32
3.10.8.	<i>Staphylococcus aureus</i>	32
3.11.	Queso.....	33
3.11.1.	Clasificación de los quesos.....	33
3.11.1.1.	Coagulación de la leche.....	33
3.11.2.	Quesos frescos.....	34
3.11.3.	Diagrama de flujo del proceso de elaboración de queso fresco.....	35
3.11.4.	Proceso de elaboración de queso fresco.....	36
3.12.	Normas que rigen la calidad integral de la leche y queso.....	38
4.	METODOLOGÍA.....	41

4.1.	Localización.....	41
4.2.	Caracterización de la leche de cabra.....	41
	4.2.1. Hatos experimentales.....	41
	4.2.2. Leche de cabra.....	41
4.3.	Análisis microbiológico de la leche y queso de cabra.....	42
	4.3.1. Preparación de diluciones.....	42
	4.3.2. Recuento de bacterias mesófilas aerobias.....	44
	4.3.3. Recuento de coliformes totales.....	44
	4.3.4. Recuento de coliformes fecales (<i>E. coli</i>).....	45
	4.3.5. Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	46
	4.3.6. Contenido de células somáticas.....	47
	4.3.7. Determinación de Salmonella por el método 1-2 Test.....	48
	4.3.7.1. Interpretación de resultados.....	51
	4.3.8. Reducción de resazurina.....	51
4.4.	Análisis fisicoquímicos de leche de cabra.....	52
	4.4.1. Análisis con equipo Lactoscan.....	52
	4.4.2. Medición de pH.....	52
	4.4.3. Acidez titulable.....	53
4.5.	Análisis estadístico.....	53
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	54
5.1.	Ordeña en hatos caprinos.....	54
5.2.	Pruebas fisicoquímicas en leche de cabra.....	56
5.3.	Pruebas microbiológicas en leche de cabra.....	58
	5.3.1. Células somáticas (CS).....	58
	5.3.2. Resazurina.....	59
	5.3.3. Conteo microbiano de leche de cabra.....	60
5.4.	Análisis microbiológico de queso de Aro.....	62
6.	CONCLUSIONES Y/O RECOMENDACIONES.....	65
7.	LITERATURA CITADA.....	67

8.	ANEXOS.....	73
	A1. Interpretación de resultados para el recuento de mesofílicos aerobios.....	73
	A2. Interpretación de resultados para el recuento de coliformes totales.....	77
	A3. Interpretación de resultados para el recuento de coliformes fecales.....	80
	A4. Interpretación de resultados para el recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	85
	A5. Interpretación de resultados para Salmonella.....	88

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Tipo de producción por raza caprina.....	6
Cuadro 2. Composición química de la leche de diferentes especies.....	15
Cuadro 3. Importancia de los ácidos grasos de la leche.....	17
Cuadro 4. Especificaciones fisicoquímicas para la leche cruda de vaca.....	38
Cuadro 5. Especificaciones sanitarias para la leche cruda de vaca.....	39
Cuadro 6. Especificaciones para la determinación sanitaria de leche de acuerdo a la reducción de resazurina.....	39
Cuadro 7. Especificaciones sanitarias para queso de acuerdo a normas oficiales mexicanas.....	40
Cuadro 8. Límites máximos de contenido microbiano para leche y derivados lácteos.....	40
Cuadro 9. Análisis fisicoquímico en leche de cabra de tres queserías del Valle del Salado Puebla.....	56
Cuadro 10. Estimación de células somáticas en leche de cabra en tres queserías del valle del Salado.....	59
Cuadro 11. Clasificación de la calidad microbiológica de acuerdo a la decoloración de resazurina con forme a la NMX-F-700-COFOCALEC-2012.....	60
Cuadro 12. Recuento microbiano de leche de cabra de tres queserías del Valle del Salado.....	60
Cuadro 13. Comparación de la calidad microbiológica de la leche de cabra con respecto a normas oficiales mexicanas.....	61
Cuadro 14. Recuento microbiano en queso de aro de tres queserías del Valle del Salado.....	62

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Raza caprina Alpina.....	7
Figura 2. Raza caprina Anglo Nubia.....	7
Figura 3. Raza caprina Angora.....	8
Figura 4. Raza caprina Boer.....	9
Figura 5. Raza caprina Saanen.....	9
Figura 6. Principales estados productores de leche de cabra.....	10
Figura 7. Producción estatal, anual de leche de cabra.....	11
Figura 8. Ubicación geográfica de San José Alchichica, (El salado).....	12
Figura 9. Composición del glóbulo graso de la leche.....	18
Figura 10. Molécula de la lactosa.....	19
Figura 11. Kit para la detección de células somáticas.....	25
Figura 12. Diagrama de flujo para la elaboración de queso fresco.....	35
Figura 13. a)-e) Demostración gráfica de la prueba de salmonella.....	48-50
Figura 14. Condiciones de manejo e higiénicas en el proceso de ordeña de cabras en los hatos experimentales.....	55
Figura 15. Coloración de la prueba de resazurina de las tres queserías del Valle del Salado.....	59
Figura 16. Recuento microbiano (UFC/mL) en leche de las tres queserías del Valle del Salado.....	63

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente Puebla es productor de ganado caprino, en el año 2010 ocupó el tercer lugar a nivel nacional con una producción de 1,454,274 cabezas, sin embargo esto no figura en la producción de leche, ya que la mayor parte del ganado es comercializado por su carne; cabe destacar que a nivel estado, el Distrito de Libres aporta el 50% del volumen total de la producción estatal anual de leche de cabra siendo este de 906 miles de litros (SIAP, 2012). La leche de cabra es utilizada en la elaboración de queso fresco de “Aro” principalmente, lo que muestra la importancia que ha tenido la caprinocultura en la economía del Distrito de Libres durante los últimos años; por lo tanto, es necesario generar conocimiento sobre las características de dicha leche y su impacto en la elaboración del queso de Aro, por lo que, en un principio se evaluará la composición y calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche de cabra producida en la región.

La leche es considerada como el alimento más completo que existe en la naturaleza, principalmente por el valor biológico de sus constituyentes, se define como el líquido segregado por las hembras de los mamíferos a través de las glándulas mamarias, cuya finalidad básica es alimentar a su cría durante un determinado tiempo (SAGARPA, 2011). La composición química de la leche influye mucho en la calidad de la misma y por ende en los productos derivados y de la transformación de ésta (Wolfgang, 1997), como es el caso del queso fresco de Aro, que es considerado como un queso fresco por su elevado contenido de humedad en la pasta que puede variar de 45 a 80% de agua (Villegas, 2003), y estos deben ser consumidos no rebasando los 5 días de almacenamiento a 20 °C después de su elaboración, puesto que son altamente perecederos aun manteniéndolos en una cadena de frío (Carrillo, 2011).

La calidad composicional del queso se basa principalmente en el contenido químico de la leche con la que se elabora (Wolfgang, 1997). Esto también afecta puesto que la leche se convierte en un sustrato rico en nutrientes para el desarrollo y crecimiento de microorganismos, por ello es necesario mantener un estricto cuidado en la limpieza del lugar, el personal y material de ordeña, así como la ubre del animal ya que la leche se vuelve más susceptible a una contaminación desde el momento que sale de la misma. Por lo cual es conveniente seguir las Buenas Prácticas en producción de leche caprina (SAGARPA-SENASICA, 2011) para poder garantizar al consumidor un producto de calidad manifestándose en la vida de anaquel de este.

Lo anterior, da pauta a la importancia de conocer la composición fisicoquímica y microbiológica de la leche de cabra, de igual forma es necesario observar las (BPM) que hasta el momento llevan algunas queserías antes, durante y después de cada ordeño, hasta obtener el producto final (queso fresco de aro). Los resultados de esta información ayudarán a mantener o mejorar las buenas prácticas de manufactura que se realizan en las queserías. Para esto se evaluaron 6 hatos representativos de la región, por medio del análisis de la leche y queso de las mismas queserías durante tres días consecutivos.

2. GENERALIDADES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 Planteamiento del problema

Santos 1995, considera un queso fresco aquel que se vende en un plazo no mayor a los 30 días de su elaboración y estos por lo regular son consumidos a los 15 días en zonas aledañas; debido a su constitución física y química de los quesos de aro producidos en la región de Alchichica, Puebla, entran dentro de esta clasificación.

Por otra parte Carrillo 2011, menciona que la vida de anaquel promedio en quesos similares dura 5 días a 20 °C y 9 días a 10 °C, haciendo énfasis de que a partir de este tiempo transcurrido, comienzan las modificaciones fisicoquímicas del queso, debido al desarrollo de microorganismos presentes en el mismo.

Algunos de tales microorganismos vienen de la etapa de la ordeña, otros se agregan durante la elaboración del queso, y otros llegan directamente a los ambientes de anaquel. Provocando la descomposición que genera una fuerte desventaja para incrementar la comercialización del mismo.

Con lo anterior se estima una vida de anaquel para los quesos de aro de esta zona no mayor a 8 días, sin haber cambios organolépticos significativos.

Si los factores causantes de la breve vida de anaquel del queso fresco de Alchichica fueran controlados adecuadamente, el producto tendría mayor calidad higiénica y ventajas para su manejo comercial.

2.2 Objetivos

2.2.1 Objetivo General

Evaluar las características fisicoquímicas y microbiológicas de leche de cabra y del queso de Aro en el Valle del Salado, Puebla.

2.2.2 Objetivos Específicos

- Evaluar las prácticas que se realizan en el ordeño de la cabra.
- Evaluar las prácticas de manufactura en la elaboración de queso fresco de Aro.
- Realizar análisis microbiológicos de Bacterias mesofilicas aerobias, *E. coli*, Coliformes Totales, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* en la leche y queso de cabra.
- Cuantificar la concentración de células somáticas en leche de cabra
- Analizar la composición fisicoquímica de la leche de cabra
- Comparar los resultados de los análisis microbiológicos y fisicoquímicos, con las Normas Oficiales Mexicanas (NOM) aplicables.

2.3 Hipótesis

Las deficiencias en la aplicación de las Buenas Prácticas de Producción y Manufactura (BPM) en el proceso de ordeño y de elaboración del queso de Aro, se ve reflejado en las características microbianas, fisicoquímicas mismos factores pueden determinar la vida de anaquel del queso de Aro.

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 La caprinocultura en México

La cabra fue introducida a México por los españoles, los estudios genotípicos y fenotípicos indican una mayor influencia Navarra y Andaluza de las cabras originarias que llegaron a nuestro país, adaptándose desde entonces en gran parte al territorio nacional, demostrando ser aptas para una producción pecuaria rentable, pero particularmente una especie muy resistente a la sequía y escasas de forrajes, por lo que se ha desarrollado como una fuente de ahorro de muchas familias marginadas; la mayoría de las unidades productivas se conforman de pequeños rebaños manejados directamente por un pastor o una familia, la cual realiza todas las actividades de manejo.

Desde principios de siglo en nuestro país han constituido una fuente de trabajo familiar, además de haber demostrado con la producción y transformación de la leche, capacidad empresarial de la especie, en diferentes regiones del país.

Los productos caprinos tienen en general alto valor al llegar al consumidor final sin embargo no se manifiesta en los ingresos, ni el nivel de vida de los productores primarios. Esto indica un potencial latente de desarrollo, pues los productores pueden participar más adelante en la cadena de valor agregado, siempre que adapten sus procesos a las exigencias del mercado moderno y formen asociaciones para la producción y comercialización de sus productos (Guerrero, 2010).

3.2 La cabra

Cabra es un género de mamíferos artiodáctilos de la familia Bovidae que suelen conocerse comúnmente como cabras, aunque existen animales de otros géneros (por ejemplo: Oreomys) que también se llaman así (Corcy, 1993).

Aparece como el versátil animal doméstico proveedor de carne, leche, piel ó pelo, con destacada participación en los países de la cuenca del Mediterráneo (SAGARPA-SENASICA, 2011).

3.2.1 Clasificación de razas caprinas

Algunos de los criterios utilizados para la clasificación de razas caprinas son los siguientes:

- Lugar de origen (situación geográfica)
- Tipo de producción (leche, carne, pelo, piel, prolíficas)
- Aspectos físicos (tamaño, forma, presentación de cuernos, forma y tamaño de orejas) (De la Rosa, 2011).

Cuadro 1. Tipo de producción por raza caprina.

TIPOS DE PRODUCCIÓN				
LECHE	CARNE	PELO	PIEL	PROLIFICAS
Saanen	Boer	Angora	Boer	Barbari
Anglo-nubia	Jamnapari	Cachemira	Red Sokoto	Enanas
Toggenburg	Beetal			Malabar
Alpinas	Enanas			Damasco
Granadina				
Murciana				
La Mancha				

Fuente: De la Rosa, 2011.

3.2.2 Razas de caprinos más difundidas

- **Alpina**

Son de origen suizo, la mayoría de ellas son de color blanco con negro, y blanco con café, pero pueden tener otros colores; Las orejas están erectas y sus cuernos son medianos los cuales se inclinan hacia atrás.



Figura 1. Raza caprina Alpina.

Fuente: De la Rosa, 2011.

- **Anglo-nubia**

Esta raza tiene su origen en el Reino Unido, es una raza de cabra productora de leche con cantidades elevadas de grasa por lo que es excelente para la producción de quesos; son animales delgados y de tamaño mediano con orejas largas, anchas y caídas, el pelo es corto y el color puede ser negro, canela y rojo, aunque es común que estos colores estén manchados con blanco.



Figura 2. Raza caprina Anglo Nubia.

Fuente: De la Rosa, 2011.

- **Angora**

Tiene su origen en Angora (Asia menor). La característica principal es su pelo o mohair, el cual es muy similar a la lana en su composición química, pero difiere en que es más delgado y liso.



Figura 3. Raza caprina Angora.

Fuente: De la Rosa, 2011.

- **Boer**

Se le conoce también como Africander/Afrikander, cabra común de Sudafrica; Es un tipo indígena mejorado, con influencia de algunas razas europeas, cabras Angora y cabras Indicas.

El gen de color blanco de su cuerpo es su característica dominante. Otra variedad de Boer es la de capa marrón color de pelaje que es completamente uniforme en todo su cuerpo; son de estatura robusta, buena alzada, pelo corto, orejas largas y cabeza astada.

La boer es de carne por excelencia, contiene colesterol y el extracto de grasa concentrada es sensiblemente menor que el de la carne vacuna.



Figura 4. Raza caprina Boer.

Fuente: De la Rosa, 2011.

- **Saanen**

Esta raza es originaria de Suiza de las montañas, del valle de Saanen, es considerada la raza caprina lechera por excelencia. Tiene orejas cortas y rectas puede tener o no cuernos, su capa es blanca, piel fina, trompa rosada, también pueden aparecer motas de color negro en orejas y ubres. Su desarrollo es mejor en climas fríos porque son sensibles al calor por su color blanco que no resisten las radiaciones solares.



Figura 5. Raza caprina Saanen.

Fuente: De la Rosa, 2011.

3.3 Producción anual estatal de leche caprina

Datos registrados por el SIAP (2012) indican que el estado de Puebla no tiene una participación relevante dentro de la producción total nacional, puesto que sólo aporta un total de 1749 miles de litros el 1.08% anual, ocupando el 13vo lugar, en la siguiente gráfica es como se puede observar la poca influencia que este tiene.

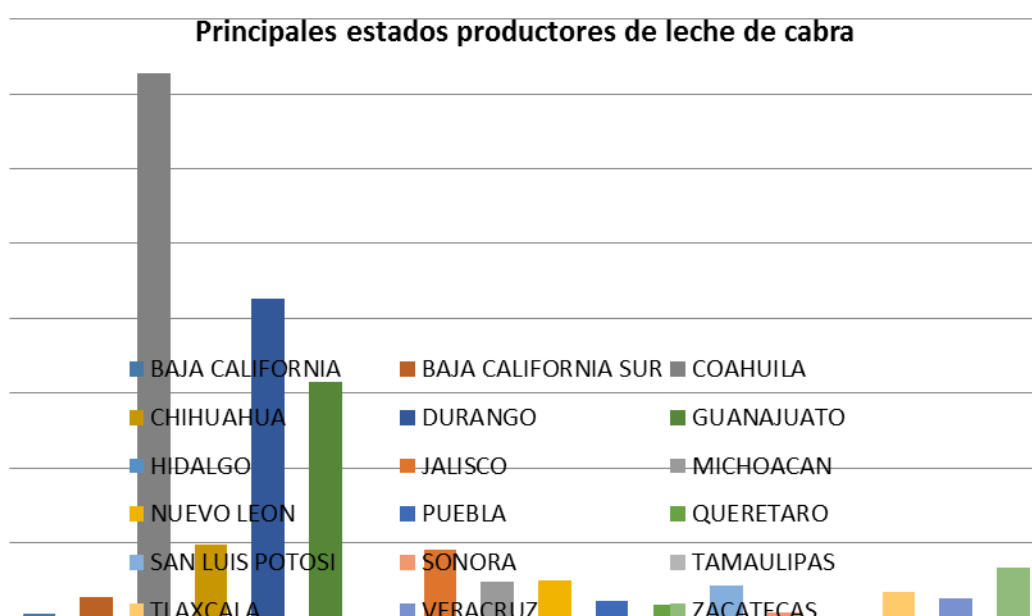


Figura 6. Principales estados productores de leche de cabra.

Fuente: SIAP, 2012.

Sin embargo se puede destacar que dentro del estado de Puebla, el Distrito de Libres tiene una participación importante ya que del total de la producción tiene aporte del 54% que corresponde a 947 miles de litros, reflejándose en la gráfica a continuación mostrada (SIAP, 2012).

Producción estatal, anual de leche de cabra

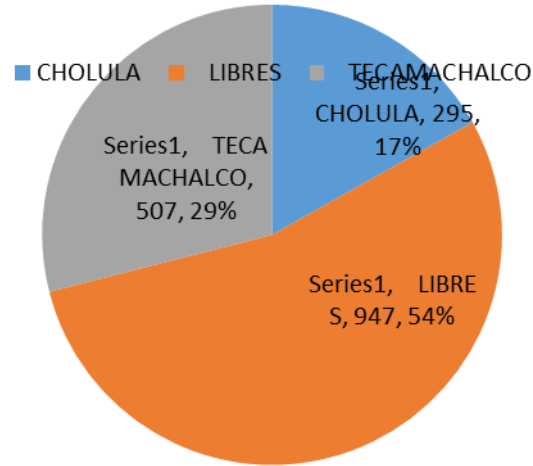


Figura 7. Producción estatal, anual de leche de cabra.

Fuente: SIAP, 2012.

3.4 Ubicación geográfica de San José Alchichica, Puebla (El Salado)

Tepeyahualco se localiza en la parte noreste del Estado de Puebla, sus coordenadas geográficas son los paralelos 19° 23' 06" y 19° 42' 42" de latitud norte y los meridianos 97° 21' 54" y 97° 21' 18" de longitud occidental, colinda al norte con Chignautla, al sur con Guadalupe Victoria, Oriental y San Nicolás Buenos Aires, al este con Veracruz y Xiutetelco, al oeste con Libres y Cuyoaco.

San José Alchichica se localiza en el Municipio de Tepeyahualco del Estado de Puebla México y se encuentra en las coordenadas geográficas: Longitud 19° 26' 02", Latitud -97° 23' 19".

La localidad se encuentra a una mediana altura de 2340 metros sobre el nivel del mar. La población total de San José Alchichica es de 2519 personas, de cuales 1251 son masculinos y 1268 femeninas.

La población económicamente activa en la localidad de Alchichica es de 683 (28.78% de la población total) personas, las que están ocupadas se reparten por sectores de la siguiente forma:

- Sector primario: 135 (20.52%) (Municipio:63.27%, Estado:28.48%)
Agricultura, Explotación forestal, Ganadería, Minería, Pesca.
- Sector secundario: 328 (49.85%) (Municipio: 19.59%, Estado:29.29%)
Construcción, Electricidad, Gas y Agua, Industria manufacturera.
- Sector terciario: 195 (29.64%) (Municipio: 17.14%, Estado 42.23%)
Comercio, Servicios, Transportes (INEGI, 2011).

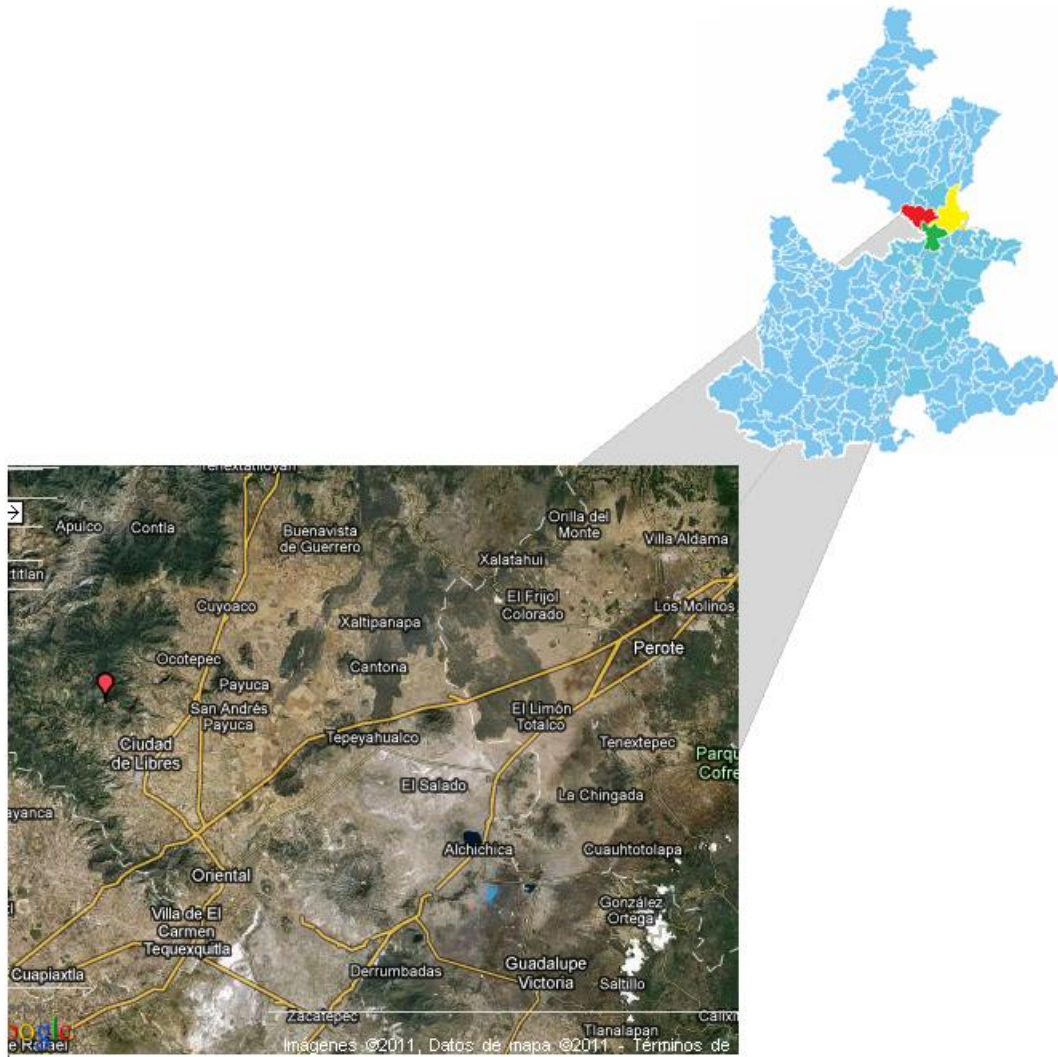


Figura 8. Ubicación geográfica de San José Alchichica, (El Salado).

Fuente: INEGI, 2011.

3.5 Sistemas de producción

Se podría definir como una combinación de factores y procesos que actúan como un todo y que son administrados, directa o indirectamente por el productor, para la obtención de productos acorde a sus metas y necesidades, todo eso influido por el ambiente social, físico, biológico, económico, cultural y político. No obstante es posible clasificar los sistemas de producción de leche de cabra a nivel mundial en tres categorías:

1. **Extensivo.-** Se caracteriza por bajos niveles de producción del rebaño, donde la cabra debe proporcionarse su alimento recorriendo extensas áreas para alimentarse de arbustos y pastos de mala calidad. La cabra se ordeña una vez al día, con producciones de leche de 80-100 litros por lactancia.
2. **Semiextensivo.-** La cabra es alimentada con pastos de mejor calidad, muchas veces con praderas artificiales. Durante la lactancia las hembras pueden ser suplementadas con subproductos de molinería y heno. Las cabras se ordeñan 1-2 veces al día con producciones de leche de 120-180 litros por lactancia.
3. **Intensivo.-** La cabra es alimentada pastoreando praderas de buena calidad, forrajes conservados y concentrados, caso que correspondería a un sistema intensivo de producción en régimen de semiestabulación. También existe la modalidad de estabulación completa, donde la cabra es mantenida y alimentada permanentemente en establos. Las cabras se ordeñan dos veces al día con producciones de leche de 200-400 o más litros por lactancia (Cofré, 2001).

3.6 La leche

La leche es un alimento que en México, desde antaño, se ha considerado básico para la población, en especial para la infantil, esta puede provenir de varios mamíferos que se explotan para autoconsumo o comercialmente (Villegas, 2004) y se define como el producto integral del ordeño total e ininterrumpido de una hembra lechera sana, bien alimentada y no agotada, recogida con limpieza y que no contiene calostro (Luquet, 1991). Hasta el año de 1930, la totalidad de la comercialización se realizaba con leche cruda, actualmente ya no es así y apenas representa el 1%, siendo reemplazada por la leche pasteurizada; que es como se puede clasificar a las leches destinadas para el consumo humano:

- Leche cruda: Sin tratamiento térmico.
- Leche tratada térmicamente
- La leche cruda es un producto interesante bajo el punto de vista de la nutrición y como no ha sufrido ningún tratamiento de saneamiento que le permita asegurar una mejor conservación, su producto y su comercialización debe ser severamente controladas para evitar los riesgos que pudiesen ocasionar en la salud; para ello es necesario tomar en cuenta los siguientes criterios:
 - Provenir de animales exentos de brucelosis y tuberculosis (enfermedades transmisibles del animal al hombre), dentro del cuadro de la profilaxis colectiva obligatoria.
 - De explotaciones bien establecidas.
 - Manipularse (ordeño, envasado, almacenamiento) en condiciones higiénicas satisfactorias.
 - Cumplir unos criterios microbiológicos determinados (testigos de la contaminación) hasta la fecha límite de consumo
 - Las leches tratadas térmicamente aseguran la destrucción de los microorganismos patógenos que se pueden encontrar en ella; los

tratamientos térmicos recomendados por la Ley General de Salud son la pasteurización y la ultrapasteurización (Luquet, 1993).

3.7 Composición química de la leche

En el siguiente cuadro se muestra la composición básica de la leche de algunos mamíferos en donde se observan algunas similitudes en sus constituyentes como lo es la materia grasa, proteínas, etc. (Villegas, 2004).

Cuadro 2. Composición química de la leche de diferentes especies.

Especie	H2O %	Sólidos Totales %	Sólidos No Grasos %	Materia Grasa %	Proteínas N X 6.38 %	Lactosa	Ca
Humana	86.41	13.59	8.97	4.62	1.23	6.94	0.03
Vaca	87.85	12.15	8.65	3.50	3.25	4.60	0.115
Búfala	83.23	16.77	9.32	7.45	3.78	4.90	0.190
Cabra	86.80	13.20	8.70	4.50	3.30	4.40	0.130
Oveja	81.60	18.40	10.90	7.50	5.60	4.40	0.200
Yegua	89.90	10.10	8.50	1.60	2.10	6.00	0.09
Burra	89.90	10.10	8.60	1.50	2.10	6.20	0.08

Fuente: (Villegas, 2004).

La composición química de la leche influye mucho sobre la calidad de los productos obtenidos a partir de la misma, al igual que el estado de salud de los animales, el manejo y la alimentación son otros factores que se deben tomar en cuenta para alcanzar unos buenos resultados en la elaboración de los productos (Villegas y Santos, 2009).

3.7.1 Proteínas de la leche

La proteína de la leche está constituida por una serie de unidades fundamentales llamados aminoácidos como la cistina, cisteína y metionina que son esenciales para el organismo humano debido a que estos no pueden ser fabricados por el organismo humano y debe obtenerlos de los alimentos (Dilanjan, 1984).

Las proteínas de la leche pueden dividirse en dos grupos principales:

- a) El complejo caseína que existe principalmente en estado coloidal de la leche.
- b) Las proteínas del suero, estas se encuentran principalmente disueltas en el suero de la leche (Dilanjan, 1984).

3.7.1.1 Caseína

Principal proteína de la leche, se encuentra fundamentalmente de forma micelar en la leche. La micela consiste en un complejo estructural de múltiples submicelas o unidades de caseína que, a su vez, están compuestas de cadenas de aminoácidos. Una unidad de caseína completa está compuesta en peso, por aproximadamente el 40% de α -caseína, 35% de β -caseína, 15% de κ -caseína y 10% de componentes minoritarios.

La química de las α -caseínas inter e intra-raciales de la leche de cabra, ha sido profundamente estudiada, debido a que el gel formado por coagulación de la leche de cabra siempre es débil, fenómeno adscrito o atribuido a los niveles de β -caseína que en la leche de vaca y a la naturaleza de las α -caseínas (Dilanjan, 1984).

3.7.2 Grasas de la leche

La grasa de la leche es fuente de componentes parcialmente responsables del flavor y aroma, así como también el cuerpo del queso, esta se encuentra en la leche en suspensión acuosa de pequeños glóbulos poli dispersos. La incorporación de la grasa a la cuajada no está relacionada sólo con la cantidad de grasa, si no que también lo están la composición de la grasa y la de membrana envolvente.

La leche de cabra tiene cantidades significativas de ácidos caproico, caprílico y cáprico, por ello los quesos elaborados con este tipo de leche tienen sabores picantes, muy típicos a la especie (Dilanjan, 1984).

Los componentes más importantes de la grasa de la leche o también llamada grasa butírica son:

- Triglicéridos de un 97 a 98% en peso
- Fosfolípidos de 0.2 a 1 % en peso
- Di y monoglicéridos de un 0.26 a 0.52% en peso (Dilanjan, 1984).

3.7.2.1 Importancia de los ácidos grasos

En la siguiente tabla se muestra la importancia que tienen los ácidos grasos de la leche en las características físicas y químicas de la misma.

Cuadro 3. Importancia de los ácidos grasos de la leche.

Los ácidos grasos de la grasa butírica influyen sobre:	Importancia de fosfolípidos.	Importancia de los carotenoides.
Consistencia de la grasa	Forman parte de la membrana del glóbulo de grasa.	El α -caroteno es el precursor de la vitamina A.
Punto de fusión	Tienen tendencia a alterarse rápidamente.	Son responsables del color de la grasa butírica.
Características organolépticas	Permiten la emulsión de la materia grasa.	Su concentración es influida por la alimentación del animal.
Tendencia a la oxidación		

Fuente: Villegas, 2004.

Las vitaminas A, D, E y K se hallan en la grasa butírica.

Cada glóbulo de grasa está constituido por un núcleo de triglicéridos y de otros componentes liposolubles y una estructura periférica compleja llamada membrana (Dilanjan, 1984).

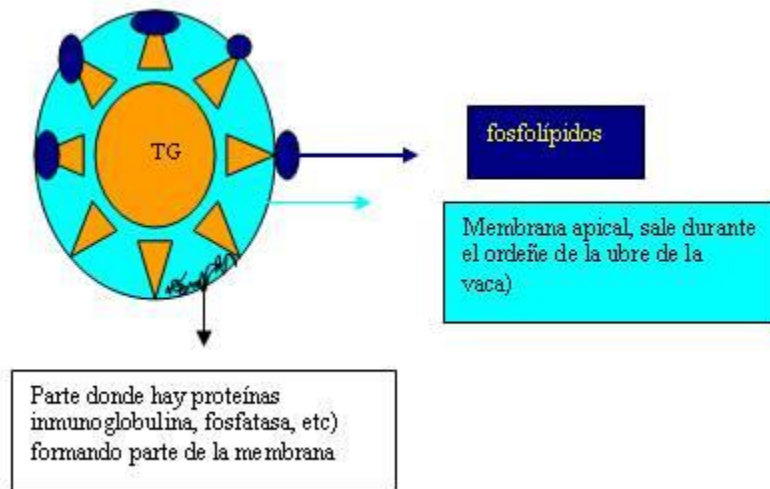


Figura 9. Composición del glóbulo graso de la leche.

Fuente: (Dilanjan, 1984).

3.7.3 Lactosa

La lactosa es el componente más abundante de la materia seca de la leche, esto es de los sólidos totales; es un carbohidrato que sólo se halla en la leche, esta se sintetiza en la glándula mamaria a partir de la glucosa sanguínea y en los rumiantes a partir de los ácidos grasos volátiles del rumen (Dilanjan, 1984).

La lactosa es un disacárido constituido por dos azúcares reductores la α o β glucosa y una molécula de β - galactosa, posee menor poder edulcorante y es menos soluble que la sacarosa; se encuentra en la leche en disolución molecular(Universidad Nacional de Colombia, 2012).

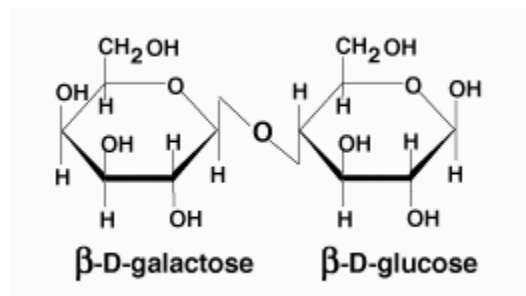


Figura 10. Molécula de la lactosa.

Fuente: Universidad Nacional de Colombia, 2012.

3.7.4 Agua

El agua se halla en la leche en dos formas: libre y ligada; la segunda no interviene en los procesos enzimáticos ni en los microbiológicos.

El agua libre es de gran importancia en quesería, porque muchos de los procesos fisicoquímicos y microbiológicos que tienen lugar en la elaboración del queso exigen su intervención, porque regulando su contenido se le da al queso la consistencia deseada (Mahaut et. al. 2003).

3.7.5 Enzimas

Son sustancias proteicas que, en la industria quesera, catalizan las reacciones químicas responsables de la coagulación de la leche y de la transformación de lactosa en ácido láctico.

Las enzimas de origen intrínseco o nativas destacan las siguientes, desde el punto de vista práctico:

- **Lipasas.**- Estas enzimas permanecen inactivas en la leche hasta que son activadas por homogeneización y la rotura de la membrana del glóbulo graso o el tratamiento térmico son capaces de liberar grasa líquida. Las

lipasas de las membranas están irreversiblemente unidas a la membrana del glóbulo graso, son sensibles al calor; se inactivan a 70°C/10s.

- **Proteasas.-** Existen en la leche dos proteasas naturales, una alcalina cuyo pH óptimo se halla entre 7 y 8 y otra ácida con un pH óptimo de 4; son de gran importancia en la calidad de productos lácteos, como es en la maduración de quesos, propiedades organolépticas y características reológicas. Son termorresistentes ya que se inactivan a 80°C/10 min o 142°C/16s.
- **Fosfatasa alcalina.-** Es una hidrolasa que cataliza la hidrólisis de los ésteres de ácido fosfórico; se halla en la membrana del glóbulo graso con un pH óptimo de 9.6 es termolábil ya que es destruida por la pasteurización (por ello se utiliza como indicador del proceso); presenta la tendencia a reactivarse.
- **Catalasa.-** Es de origen bacteriano o leucocitario y está presente en todas las leches. Es una óxido-reductasa que descompone el agua oxigenada en agua y O₂; se inactiva entre 65 y 68 °C/30 min (Mahaut et. al. 2003).

3.8 Propiedades físicas de la leche de cabra

Las propiedades físicas están determinadas por los componentes que tenga la leche y se ve reflejado en:

3.8.1 Color

Éste varía de un blanco azulado a un amarillo dorado, dependiendo de la raza, alimentación y la cantidad de grasa y sólidos presentes. El color blanco resulta de la dispersión de la luz reflejada por los glóbulos de grasa y las partículas coloidales de caseína y fosfato de calcio; el color amarillo se debe a la presencia de carotenoides; el color azulado se debe a la remoción de grasa; también puede tener una coloración café claro obtenido de someter la leche a temperaturas por arriba de los 100 °C puesto que hay una caramelización de

azúcares y en caso de presentar un tono rosado indica la presencia de sangre (Quiles, 2007).

3.8.2 Sabor

Al inicio del periodo de lactación, el sabor es muy peculiar, agradable y dulce debido a la presencia del azúcar que contiene. Al término de la lactancia, el sabor cambia a un poco salado por la cantidad de sales que contiene.

La alimentación también influye en el sabor por ejemplo los forrajes y plantas como la cascara de naranja, betabel, ajo, cebolla o alfalfa

Los recipientes metálicos, también tienen influencia de manera externa, ya que transfieren sabor a óxido o metal.

Las enfermedades infecciosas pueden alterar el sabor debido al aumento anormal de cloruros o la modificación del pH o grado de acidez (Quiles, 2007).

3.8.3 Olor

La leche recién ordeñada tiene olor característico de cada especie en lactación; generalmente toma olores del medio ambiente como el olor a establo, orines, desinfectantes, etc. (Quiles, 2007).

3.8.4 Temperatura

Al momento de la ordeña, la temperatura a la que sale la leche de la ubre es de 36 - 37°C, esta temperatura afecta la densidad así como la formación de la nata y el desarrollo de microorganismos (Quiles, 2007).

3.8.5 Densidad o peso específico

Es el peso de la unidad de volumen a una cierta temperatura, varía en función del contenido de sólidos no grasos y de la proporción de grasa. La densidad de la leche de cabra medida a una temperatura de 20°C oscila entre 1.026 y 1.042

g/mL; los factores que afectan son la temperatura, época del año, alimentación, fase de lactación y raza (Quiles, 2007).

3.8.6 Acidez

Es el resultado de cuatro reacciones, las tres primeras constituyen la acidez natural y la cuarta forma la acidez desarrollada.

La acidez natural se debe en 2/5 partes al contenido de caseínas; en 2/5 partes al contenido de minerales y por último a 1/5 parte a las reacciones secundarias de los fosfatos.

La acidez desarrollada es consecuencia del ácido láctico y de otros ácidos resultantes de la degradación microbiana de la lactosa.

La acidez, por regla general se presenta en grados Dornic (°D) y en la fase de lactación la acidez oscila entre 16 – 18 °D (Quiles, 2007).

3.8.7 Punto de congelación

Es una de las propiedades más constantes, se utiliza para revelar posibles fraudes por adición de agua, debido a que esta eleva el valor a cero, tomando en cuenta que la leche se congela por debajo de los 0° C, siendo en leche de cabra – 0.580 °C; un factor que afecta la medición de este parámetro, es la acidez por fermentación, ya que a mayor sea esta, más se rebaja el punto de congelación (Quiles, 2007).

3.8.8 Viscosidad

Es la resultante del frotamiento de moléculas y se traduce en la resistencia más o menos grande de los líquidos a fluir; depende de la materia grasa en estado globular y de las macromoléculas proteicas.

Influye de manera comercial debido a que el consumidor prefiere una leche muy viscosa por que la asocia a una mayor concentración de componentes; se expresa en centipoises (cP) y los factores que la afectan son la temperatura y el

pH ya que a manera de que estos aumentan, la viscosidad o disminuye (Quiles, 2007).

3.8.9 pH

Es la acidez natural de la leche o su concentración de iones hidrogeno, influye en la estabilidad de las caseínas, por lo general, la leche de cabra tiene un pH entre 6.3 y 6.8; el pH se ve influenciado por la fase de lactación o de la raza, y se puede alterar debido al desprendimiento de gas carbónico una vez concluida la ordeña o durante la manipulación de la leche (Quiles, 2007).

3.8.10 Tensión superficial

Es la fuerza física que por causa de la cohesión de las moléculas, forma en su capa superior una película dotada de fuerza que sirve para separarla del medio exterior; el parámetro se mide en Dinás y para la leche de cabra a 20 °C medida con el anillo de Nüoy, es de 52 dinas /cm para la leche entera y de 55.9 dinas /cm para la leche desnatada (Quiles, 2007).

3.9 Pruebas fisicoquímicas de la leche

La calidad de la leche es la suma de las características que la definen (nutritivas, composicionales, higiénicas, microbiológicas sensoriales, tecnológicas, etc.) y que concurren a proporcionar satisfacción al consumidor.

La leche como materia prima, se debe cuidar en todos los aspectos desde la ordeña hasta el consumo, debido a que es más susceptible por tener un alto contenido de agua.

La calidad se divide en diferentes tipos:

Composicional.- % de sólidos, % de grasa, % de proteínas, etc.

Fisicoquímica.- pH, acidez titulable, densidad, viscosidad, estabilidad al alcohol, etc.

Sanitaria.- Carga mesófila, cuenta de coliformes, carga de células somáticas, presencia de inhibidores, etc.

Sensorial.- Color, olor, sabor

Tecnológica.- Fermentabilidad, cuajabilidad, estabilidad al calor, etc. (Molina y Gaviria, 2007).

3.9.1 Células somáticas

La mastitis es la enfermedad más costosa contra la cual lucha la industria lechera. Tan solo en estados unidos las pérdidas llegan a más de un millón de dólares cada año.

Esta enfermedad ocasiona pérdidas en diferentes formas: decremento en la leche producida, pérdida de permisos, aumento de multas, decremento de precio en base a la calidad, tasas altas por deshecho del hato y costo por tratamiento clínico.

La estimación de células somáticas permite detectar la leche mastitica y estimar la calidad sanitaria de ésta aun cuando se encuentra cruda, con base en su contenido de células somáticas basada en la detección de grandes cantidades de leucocitos (más de 200000 células /mL).

Para ello existen dos pruebas que son la de california y wisconsin o con un kit para detección de células somáticas como el que se muestra en la siguiente figura (Villegas y Santos, 2010).



Figura 11. Kit para la detección de células somáticas.

Fuente: Villegas y Santos, 2010.

3.9.2 Equipo ultrasónico lactoscan

Es útil para conocer la composición de la leche, el equipo que se utiliza es de la marca HYCEL, modelo S-L60 los parámetros que utiliza son los siguientes:

- **Fat (grasa)**

Forma parte de los componentes más importantes, por su valor económico, nutricional y tecnológico. La cantidad influye en el pago por calidad y estandarización.

- **Density (densidad)**

En la leche es mayor a la del agua a la misma temperatura; tres factores son los que afectan su valor: porcentaje de sólidos totales que hace que aumente, porcentaje de grasa que provoca disminución y la temperatura que entre más baja sea más incrementa el valor.

- **Lactose (lactosa)**

Es uno de los glúcidos de la leche y es importante su valor, debido a que es un sustrato para las bacterias fermentadoras además de tener un valor nutricional en la dieta humana.

- **Solids (sólidos)**

Muestra la cantidad de sólidos disueltos en la leche; empíricamente existen diversas fórmulas para su cálculo entre las cuales se encuentran la de Fleischmann, Richmond y Queensville.

- **Protein (proteína)**

La cantidad de estas, influye en la formación de la cuajada en la elaboración del queso.

- **Added water (agua adicionada)**

Es un indicador de adulteración en la leche, ya que esta por si sola tiene un porcentaje de agua, que se puede alterar.

- **Temp sample (temperatura)**

Su valor influye directamente tanto en la densidad de la leche como en el posible desarrollo de microorganismos.

- **Frz p (punto de congelación)**

Es la temperatura a la cual la leche pasa a un estado sólido, permite también detectar adulteraciones y puede variar según la cantidad de gases contenidos, adición de sales o tratamientos de pasteurización.

- **Sol SNF (sólidos no grasos)**

Son todos aquellos sólidos que excluyen a los que no son grasos por ejemplo las vitaminas hidrosolubles (Manual de uso de equipo, 2010).

3.9.3 Definición y métodos para determinar pH

Es la acidez natural que tiene la leche, medida en el contenido de iones (H^+) procedentes de ácidos que contiene la leche, por ejemplo, el ácido láctico en leche fermentada.

Los factores que influyen a este valor pueden ser: estado sanitario de la glándula mamaria, cantidad de CO_2 disuelto, fase de lactación de la cabra, alimentación, especie y tipos de microorganismos presentes.

Existen dos formas de medirlo, con potenciómetro o por colorimetría usando papeles indicadores o soluciones colorantes (Quiles, 2007).

3.9.4 Acidez titulable

Permite apreciar el probable comportamiento de la leche frente al calor, seguir la evolución de la leche y la cuajada en la elaboración del queso así como aceptar o rechazar la leche en un proceso, según el producto a elaborar.

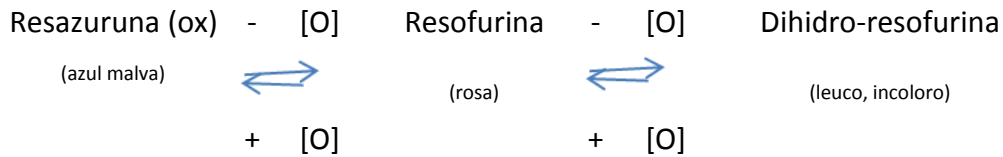
La acidez titulable se mide y clasifica en tres tipos:

- Natural. Principalmente producida por proteínas
- Desarrollada. Producida por el ácido láctico generado por las bacterias ácido lácticas al fermentar lactosa.
- Total. Es la suma de las anteriores (Villegas, 2003).

3.9.5 Reducción de resazurina

La prueba de resazurina permite apreciar la cantidad de bacterias presentes en la leche. Durante la reducción por coenzimas de la microflora de la leche pasa por una serie de colores que van desde el azul-malva, rosa-violeta o leuco (inoloro); en este último el colorante se halla como dihidro-resofurina que por el efecto del oxígeno atmosférico se puede volver rosa.

La reacción se representa así:



De acuerdo al color obtenido una vez transcurrida una hora la calidad de la leche es excelente si se obtiene un color azul-malva; si es un color rosa-violeta la calidad es media y si no tiene color, la calidad es deficiente (Villegas,2003).

3.10 Calidad microbiológica

A la salida de los pezones de la ubre, la leche posee una flora microbiana poco numerosa, es más bien en el curso de las operaciones de ordeña, colecta y conservación de la leche en la granja, el establo, o rejegería, cuando la microflora aumenta por contaminación y multiplicación de ciertos microorganismos, también depende de varios factores, como:

- La naturaleza del microorganismo.- En la leche cruda fría a 4°C, el género *Pseudomonas* se multiplica unas tres veces en 24 h. en cambio, los acidificantes mesófilos (*Lactococcus lactis spp lactis*) se duplican en menos de una hora en la leche bronca caliente de 30-37 °C.
- El medio.- La leche, debido a su riqueza en nutrientes, al contar con una fuente proteica de carbohidratos (lactosa) y factores de crecimiento, constituye un medio efectivo de cultivo microbiano.

La temperatura de incubación.- Es importante la temperatura de la leche cruda, ya que favorece la multiplicación de la flora psicrotrófa (menos de 7°C), mesófila (20-40°C) o termófila (25-50°C) (Molina y Gaviria, 2007).

3.10.1 Microorganismos índices e indicadores

Microorganismo índice es aquel cuya presencia alerta de la posible presencia de un microorganismo patógeno relacionado con él *E. coli* índice de *S. typhi*. Mientras que microorganismo indicador es aquel cuyo número indica un tratamiento inadecuado o una contaminación posterior del alimento analizado.

Un microorganismo dado puede actuar como índice e indicador simultáneamente, incluso en un mismo alimento. A pesar de que actualmente es posible detectar casi cualquier tipo de microorganismo patógeno, se siguen llevando a cabo análisis de microorganismo determinados como marcadores por razones de economía, rapidez y sensibilidad.

Los microorganismos indicadores pueden ser empleados para reflejar la calidad microbiológica de los alimentos con respecto a la vida útil de los productos o con respecto a su inocuidad por no contener microorganismos patógenos. (Pascual y Calderon, 2000).

3.10.2 Bacterias entéricas indicadoras (fam. *enterobacteriaceae*)

Existen distintos niveles o agrupación de bacterias entéricas indicadoras:

Entero bacteriáceas. Las más frecuentes son las que fermentan la lactosa. Son huéspedes normales del intestino de mamíferos, se les atribuye la contaminación fecal y se pueden desarrollar a diferentes temperaturas. Algunas especies ocasionan enfermedades gastrointestinales y compiten con bacterias lácticas para fermentar la lactosa (Fracier W.C., Westhoff D.C.1993).

Son gérmenes de forma bacilar, gramnegativo, anaerobios facultativos, no esporulados, móviles o inmóviles, que fermentan la lactosa, reducen nitratos a nitritos, son citocromo-oxidasa negativos y crecen en medios que contiene sales biliares. De los integrantes de esta familia unos fermentan la lactosa y otros no.

Dicha clasificación es la siguiente:

1. *escherichia*
2. *shigella*
3. *salmonella*
4. *citrobacter*
5. *klebsiella*
6. *enterobacter*
7. *erwinia*
8. *serratia*
9. *hafnia*

Estos subgrupos tienen una estructura natural poco conocida y presentan una serie de poblaciones intermedia difíciles de clasificar. No obstante, se pueden diferenciar tres subgrupos:

1. Enterobacterias patógenas de origen fecal.
2. Enterobacterias no patógenas de origen fecal.
3. Enterobacterias de origen no fecal.

Los subgrupos 1 y 2 tienen su hábitat natural en el tracto intestinal de los mamíferos, en cuanto a su significación sanitaria, varía desde patógenos causantes de disentería, gastroenteritis, colitis estivales, fiebres tifoideas, etc. (Enteropatógenos: *salmonella*, *shigella*, *yersinia enterocolitica*, etc.), que son transmisibles por agua y alimentos hasta géneros inocuos o saprofitos que forman parte de la flora intestinal normal del hombre y los animales.

Las enterobacterias son indicadores de contaminación fecal, y su uso como índice ha adquirido gran aceptación en Europa. Se utilizan, preferentemente, para señalar la calidad sanitaria de alimentos procesados (Pascual y Calderón, 2000).

3.10.3 Coliformes

La definición generalmente aceptada para el término “coliformes” describe a estos microorganismos como bacilos Gram negativos, no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos que fermentan la lactosa con producción de ácido y gas.

La mayoría de los coliformes pueden encontrarse en la flora normal del tracto digestivo del hombre o animales, por lo cual son expulsados especialmente en las heces, por ejemplo *Escherichia coli*. Por esta razón, su presencia constante en la materia fecal, los coliformes son el grupo más ampliamente utilizado en la microbiología de alimentos como indicador de prácticas higiénicas inadecuadas.

Como los coliformes también pueden vivir en otros ambientes, se distingue entre *coliformes totales* y *coliformes fecales* (Fracier W.C., Westhoff D.C. 1993).

3.10.4 Coliformes totales

Históricamente se ha utilizado como el primer grupo de indicadores fecales en aguas y no responden a ninguna identidad ni unidad taxonómica, sino que corresponden a una cierta identidad ecológica y metodológica.

Básicamente agrupa a aquellos géneros de la Familia Enterobacteriaceae que fermenta en la lactosa con producción de gas (Pascual y Calderon, 2000).

3.10.5 Coliformes fecales

Los coliformes son bacilos cortos gramnegativos, que se han definido como bacterias aerobias o anaerobias facultativas, que fermentan la lactosa en 48 horas y producen colonias negras con brillo metálico. Se definen por las producciones de ácido y gas a temperaturas comprendidas entre 44° y 46°C. En conjunto los coliformes están representados por cuatro géneros de la

familia Enterobacteriaceae: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobater* y *Klebsiella*; considerando a la *E. coli* como más indicativo de contaminación fecal que los otros géneros (James M., 1994).

3.10.6 *Escherichia coli*

Escherichia coli es huésped constante del intestino del hombre y de los animales de sangre caliente. Esta bacteria tiene la particularidad de que su presencia en los alimentos indica contaminación, además puede sobrevivir y multiplicarse en determinados sustratos. El hallazgo de *E. coli* en algún alimento es evidencia suficiente de que no es seguro para el consumo humano ya que se puede suponer que hay enteropatógenos donde hay contaminación fecal (Fracier W.C., Westhoff D.C.1993).

3.10.7 *Salmonella sp.*

Es otra de las bacterias de mayor importancia en los quesos ya que llega al producto a partir de las manos del ordeñador, por heces de animales, por la contaminación del equipo de ordeño, por aguas contaminadas o por una deficiente cocción de la materia prima (leche). Algunas cepas ocasionan gastroenteritis y otras salmonelosis, entidades que si no reciben la atención y tratamiento adecuado pueden ocasionar la muerte. Las infecciones con *Salmonella* son muy comunes en climas cálidos, debido probablemente a que estas condiciones ambientales favorecen el desarrollo de la bacteria en los alimentos (Pascual y Calderon, 2000).

3.10.8 *Staphylococcus aureus.*

Es una bacteria que tiene la capacidad de crecer a altas concentraciones de sal y es productor de la enzima coagulasa que es una prueba básica para su identificación. La intoxicación alimentaria estafilocócica requiere no sólo de contaminación por microorganismos, sino también de un período de 6 a 9 horas durante el cual pueda multiplicarse la bacteria y producir su toxina; esto se ve favorecido durante el enfriamiento lento después de la cocción o si el

alimento se conserva a temperatura ambiente. El recalentamiento puede destruir el microorganismo pero no la toxina termorresistente que es la causante de la enfermedad (Pascual y Calderon, 2000).

3.11 Queso

Se define como el producto fresco o madurado obtenido por coagulación de la leche u otros productos lácteos (nata, leche parcialmente desnatada, nata de suero o la mezcla de varios de ellos), con separación del suero, seguida o no de la maduración (A. Madrid, 1999).

3.11.1 Clasificación de los quesos

Son diversos factores que intervienen para su clasificación, sin embargo se puede seguir lo siguiente:

- a) Por el tipo de leche con la que hayan sido elaborados.
- b) Por el tipo de coagulación.
- c) Dependiendo del contenido de humedad.
- d) Por el porcentaje de grasa del queso.
- e) Según la textura del queso.
- f) Metodología empleada para su maduración.
- g) Tipo de microorganismos empleados en su elaboración.
- h) Según el país o región de origen (Madrid, 1999).

3.11.1.1 Coagulación de la leche

La coagulación de la leche es el momento clave en la elaboración del queso. Durante esta fase se produce la formación de un coágulo de caseína (proteína principal de la leche). La leche puede lograr la coagulación por la acción de compuestos alcohólicos, ácidos y enzimas.

- **Coagulación alcohólica.**- Esta prueba es usada en laboratorio.

- **Coagulación ácida.**- Se basa en la gelificación de las caseínas de la leche o en su precipitación, lo que forma un coágulo debido a la acidificación de la fase sérica (plasma), producida por el ácido láctico generado por fermentación o por adición de un ácido orgánico de grado alimentario (como acético o cítrico, o incluso el mismo láctico). Para que se presente este fenómeno se requiere que el pH de la leche sea menor de 5.2 aprox. Si es gradual la acidificación, o logra un pH de 4.6 -el punto isoeléctrico promedio de las caseínas- cuando la acidificación es rápida.
- **Coagulación enzimática.**- Por medio de renina u otras enzimas coagulantes o proteolíticas (pepsina, enzimas bacterianas y vegetales). Se basa generalmente en el empleo de la enzima llamada renina o quimosina, producida en el abomaso (o cuajar) de los rumiantes lactantes (terneros, cabritos, corderos). Esta enzima está presente, activa, en el llamado “cuajo” comercial, que no es más que la solución extractora de la enzima, incluyendo ésta (Madrid, 1999).

3.11.2 Quesos frescos

Son aquellos que tienen un alto contenido de humedad (del 60 al 80% según variedades), con consistencia general pastosa, que no han sufrido un proceso de maduración, por lo que suelen tener sabor a leche fresca o leche acidificada; son quesos sin corteza o con una corteza muy fina, que apenas se prensan, con lo que no se elimina mucho suero (Cenzano, 1992).

Los quesos de cabra más populares de España corresponden a quesos sin fermentación o con fermentación láctica natural que se consumen frescos o en un periodo de 15-20 días. El consumo de queso fresco de leche de cabra sin pasteurizar ha sido asociado como la principal causa de brucelosis. En España no está permitida la comercialización de quesos elaborados con leche cruda con menos de 60 días de maduración, período en el cual se modifican los

carbohidratos, los lípidos y las proteínas responsables del aroma típico del queso de cabra (Cofré, 2001).

3.11.3 Diagrama de flujo del proceso de elaboración de queso fresco

En la siguiente gráfica se muestran los pasos principales para la elaboración y obtención de un queso de cabra fresco.

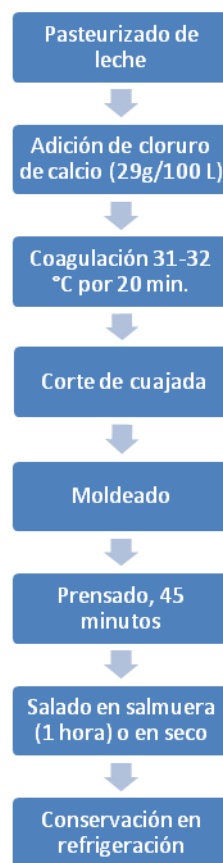


Figura 12. Diagrama de flujo para la elaboración de queso fresco

Fuente:(Cofré, 2001).

3.11.4 Proceso de elaboración de queso fresco

- ❖ **Pasteurización:** Consiste en eliminar a todos los microorganismos patógenos vegetativos, así mismo destruye una elevada proporción de enzimas nativas (lipasas) que pueden tener injerencia en la maduración o conservación del queso, Este tratamiento permite que los cultivos lácticos inoculados se desarrollen bien en la leche de proceso y no enfrenten una fuerte competencia con la abundante flora original de la leche cruda. Suele aplicarse un tratamiento térmico lento de 63°C por 30 min (Villegas, 2004).
- ❖ **Adición de cloruro de calcio:** El cloruro de calcio se incorpora a la leche pasteurizada para queso, dosis que van de 10 a 20 g por 100 L de leche. El CaCl_2 constituye una fuente directa de iones calcio los cuales se hallan involucrados en la segunda fase de la reacción de cuajado enzimático, es decir en la formación de la red caseínica constituida por la agregación de las micelas proteicas más o menos modificadas, unidas por puentes cálcicos y fosfocálcicos (Villegas, 2004).
- ❖ **Coagulación:** La temperatura de cuajado constituye uno de los factores clave en el cuajado enzimático; en principio tiene que ver con que se dé la formación del gel o no. Con cuajo de renina, la reacción de coagulación de la leche se puede llevar a cabo entre unos 15 y 50°C. La mayoría de los quesos frescos se obtienen al cuajar la leche a una temperatura entre 30 y 33 °C, los semiduros y duros entre 32 y 36 °C (Villegas, 2004).
- ❖ **Cortado:** Consiste en el corte de la cuajada se corta de varias maneras. con cuchillo en cubos pequeños a aprox. 1 cm. esto para acelerar el proceso de sinéresis del suero, con pala de madera, o con la mano(a menudo se dice que se “quiebra” o se “bate”), y se desuera aglomerándola manualmente, o con ayuda de una manta de malla fina (Villegas .2003).
- ❖ **Desuerado:** El desuerado debe favorecerse por la fragmentación del coagulo, la agitación de la cuajada cortada, el calentamiento de la masa y

el prensado de la cuajada escurrida. los coágulos que componen la cuajada, sufren un fenómeno de sinéresis (encogimiento) a partir de la expulsión del suero retenido en el mismo. Esta pérdida de agua da mayor firmeza a la cuajada. La combinación de la formación de la cuajada y el desuerado constituyen procesos de deshidratación o desecación de la leche que impide la proliferación inicial de bacterias y favorece la conservación del producto. La eliminación de humedad durante el proceso determina y condiciona la consistencia final del queso, su contenido de lactosa y por lo tanto de ácido láctico, con sus consecuentes repercusiones fisicoquímicas y microbiológicas.

- ❖ Moldeado: La cuajada escurrida del suero se pasa a los moldes acondicionados, el desuerado sigue espontáneamente en los moldes. (Madrid,
- ❖ Prensado: Se realiza con el fin de retirar el exceso de suero que todavía se encuentra en el queso, se lleva a cabo en prensas de quesería, con las que se ejerce sobre la cuajada determinada presión que puede aumentar progresivamente durante el curso de la operación. Las condiciones de prensado son distintas para cada tipo de queso, variando la presión a aplicar, el desarrollo y duración de la operación, etc.
- ❖ Salado: El salado reduce la proliferación de ciertas clases de bacterias, completa el desuerado y contribuye al sabor deseado del queso.

El salado puede efectuarse por los siguientes métodos o con una combinación de ellos.

- Adición de sal a la leche de quesería
- Salado de la cuajada escurrida
- Salado seco de los quesos
- Salado de los quesos en salmuera

La sal influye en el sabor del queso, elimina suero de la cuajada y contribuye a regular la humedad y la acidez. También ejerce un control sobre el crecimiento de los microorganismos indeseables, pues regula la microbiota del queso.

- ❖ **Maduración:** Durante la maduración se desarrollan varios procesos químicos, físicos microbiológicos y enzimáticos que resultan en el aspecto y sabor característicos del queso (Madrid, 1999).

3.12 Normas que rigen la calidad integral de la leche y queso

Por sus características fisicoquímicas y de composición, la leche es altamente susceptible a la contaminación y el deterioro, afectándose su calidad por las condiciones higiénicas y sanitarias de producción, almacenamiento y transporte, además de que puede constituirse en un excelente vehículo de organismos patógenos.

Por lo anterior, es necesario contar con una Norma Mexicana que establezca las especificaciones de la leche cruda en el país, con la finalidad de uniformizar los requisitos que la industria solicita a los productores de leche (NMX-F-700-COFOCALEC-2012).

Cuadro 4. Especificaciones fisicoquímicas para la leche cruda de vaca.

Parámetro	Especificación	Método de prueba
Densidad a 15°C g/mL	1,0295 mín.	NMX-F-737-COFOCALEC-2010
Grasa butírica g/L		
Clase A	≥ 32	
Clase B	31 mín.	NOM-155-SCFI-2003
Clase C	30 mín.	
Proteínas totales g/L		
Clase A	≥ 31	
Clase B	30 a 30,9	NOM-155-SCFI-2003
Clase C	28 a 29,9	
Caseína g/L	23 mín.	NOM-155-SCFI-2003
Lactosa g/L	43 a 50	NOM-155-SCFI-2003
Sólidos no grasos g/L	83 mín.	NOM-155-SCFI-2003

Punto Crioscópico °C	Entre -0,515 y - 0,536	NOM-155-SCFI-2003
----------------------	---------------------------	-------------------

Fuente: NMX-F-700-COFOCALEC-2012.

Cuadro 5. Especificaciones sanitarias para la leche cruda de vaca.

Parámetro	Especificación	Método de prueba
Acidez (como ácido láctico) g/L	1,3 a 1,6	NOM-155-SCFI-2003
Cuenta total de bacterias Mesofilicas Aerobias UFC/ML		
Clase 1	≤ 100 000	NOM- 243- SSA1-2010
Clase 2	101 000 a 300 000	
Clase 3	301 000 a 599 000	
Clase 4	600 000 a 1 200 000	
Conteo de Células somáticas CS/mL		
Clase 1	≤ 400 000	Véase inciso 3 del Apéndice Normativo A
Clase 2	401 000 a 500 000	
Clase 3	501 000 a 749 000	
Clase 4	750 000 a 1 000 000	

Fuente: NMX-F-700-COFOCALEC-2012.

Cuadro 6. Especificaciones para la determinación sanitaria de leche de acuerdo a la reducción deresazurina.

Coloración de la leche	Calidad de la leche
Azul	Buena
Violeta	
Malva	
Rosa-Violeta	Regular
Malva-Rosa	
Rosa	
Decoloración total	Mala

Fuente: NMX-F-700-COFOCALEC-2012.

NOTA: La leche deberá someterse a baño María a 38°C por una hora, para poder tomar el resultado.

Cuadro 7. Especificaciones sanitarias para queso de acuerdo a normas oficiales mexicanas.

Quesos	Frescos	Madurados	Procesados
Microorganismos	Límite		Máximo
Coliformes fecales (NMP/g)	100	50	
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	1000	100	Menos de 100
Salmonella en 25 g	Ausente	Ausente	Ausente

Fuente: NOM-121-SSA1-1994.

Cuadro 8. Límites máximos de contenido microbiano para leche y derivados lácteos.

Microorganismo	Límite máximo	Productos
Coliformes totales	≤ 100 UFC/g o mL	Helados y sorbetes. Quesos de suero.
	≤ 20 UFC/g o mL	En punto de venta: Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado, pasteurizados.
<i>Staphylococcus aureus</i>	≤ 10 UFC/ mL por siembra directa	Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado pasteurizado.
	1000 UFC/g	Quesos frescos y quesos de suero
<i>Salmonella spp</i>	Ausente en 25g o mL	Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado: pasteurizados y deshidratados.
		Quesos frescos, madurados y procesados. Quesos desuero. Cremas, leche fermentada o acidificada, dulces a base de leche*, helados, sorbetes y bases para helados, mantequillas.
<i>Escherichia coli</i>	100 UFC/g o mL	Quesos frescos.
	≤ 3 NMP/g o mL	Leche utilizada como materia prima para la elaboración de quesos. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado; deshidratados.

Fuente: NOM-243-SSA1-2010.

4. METODOLOGÍA

4.1 Localización

La presente investigación se llevó a cabo en la localidad de San José Alchichica, Puebla; localizada en el municipio de Tepeyahualco, colindando al Norte con Chignautla, al sur con Guadalupe Victoria, Oriental y San Nicolás Buenos Aires, al Este con Veracruz y Xiutetelco y al Oeste con Libres y Cuyuaco. Dicha localidad se encuentra a una altura de 2340 metros sobre el nivel del mar.

4.2 Caracterización de la leche de cabra

4.2.1 Hatos experimentales

Fueron seleccionados 3 hatos, con mayor producción de leche caprina, ubicadas en el municipio de Alchichica, mismos que fueron evaluados durante 3 días consecutivos, realizando los análisis microbiológicos y fisicoquímicos correspondientes.

4.2.2 Leche de cabra

Para la toma de muestra de leche de cabra, se asistió a los hatos-queserías al momento de la ordeña (misma que era llevada a cabo por el propietario del rebaño en un horario de 6:30 a 8:00 hrs y de 18:00 a 19hrs); tomando dos muestras de 200 ml en frascos estériles de 250 ml, dichas muestras se recolectaban del contenedor que usaba cada ordeñador. Una vez obtenida la muestra de leche uno de los frascos fue utilizado para realizar los análisis fisicoquímicos *in situ*, el segundo frasco se reservó en un termo frío, para evitar contaminación cruzada y modificaciones fisicoquímicas, que influyan en el desarrollo bacteriano y alteren el resultado microbiológico.

Terminado el proceso de ordeña, se procedió a la elaboración del queso. La esposa del propietario del rebaño fue quien elaboró el queso usando sus propios recursos en cuanto a materiales y metodologías para la producción del

”Queso de Aro”. Del total de estos era tomado un queso por cada ordeña, manteniéndolo en una bolsa estéril dentro de un termo frío. Para posteriormente ser trasladado al laboratorio de microbiología del Instituto Tecnológico Superior de Libres, para realizar los análisis microbiológicos, estos por triplicado; replicando esto en cada quesería.

4.3 Análisis microbiológico de la leche y queso de cabra

Uno de los frascos con muestra de leche era reservado en un termo para su posterior traslado al laboratorio de microbiología del Instituto Tecnológico Superior de Libres y realizar los análisis microbiológicos, como fue la determinación de bacterias mesofílicas aeróbicas, coliformes totales, *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus* de forma cuantitativa y cualitativamente se determinó células somáticas y resazurina, dichos análisis fueron realizados por duplicado.

4.3.1. Preparación de diluciones

Para realizar la incubación y el conteo de microorganismos se realizaron diluciones siguiendo la NMX-110-SSA1-1994 como se explica a continuación:

1. Se prepararon 100 ml de agua peptonada, en un matraz erlenmeyer, siguiendo el modo de preparación (15 g del polvo agua de peptona en 1 litro de agua purificada, calentar ligeramente hasta disolver y esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos).
2. Poner el agua preparada en frascos para su posterior esterilización.
3. Lavar las pipetas, poniendo un tapón de algodón en el extremo de la pipeta, quitando el exceso pasándolo por un mechero o lámpara de alcohol.
4. Las puntillas lavarlas y ponerlas en una bolsa de polipapel.

5. Los tubos son lavados y tapados, posteriormente se colocan en bolsas de polipapel.
6. El material descrito en el punto 2, 3, 4 y 5 se esteriliza a $121 \pm 1^\circ\text{C}$ por 15 minutos.
7. Una vez el material estéril y listo para usar, se procede al llenado de los tubos con el agua peptonada, esto se realizará dentro de la campana de flujo laminar.
8. Con la ayuda de la pipeta de 10mL, verter en los tubos 9 mL del agua peptonada previamente estéril, teniendo en cuenta el flamear la boquilla del tubo antes y después de agregar el agua, para disminuir el riesgo de contaminación.
9. Preparar la dilución primaria, se homogeniza la muestra y con la ayuda de la micropipeta ajustada a un volumen de 100 μl se toma la muestra con la puntilla y se agrega en alguno de los tubos que contenía previamente agua peptonada, mismo que será rotulado como 10^{-1} . Verificar que la temperatura del agua peptonada no rebase los 35°C .
10. Agitar la muestra en el agitador tipo vortex por 7 segundos.
11. La cantidad de diluciones adicionales depende de la cantidad de microorganismos estimados en la muestra, ya sea en base a resultados de análisis previos o de la información obtenida del personal de inspección que se haya contactado. En este trabajo se realizaron diluciones 10^{-1} hasta 10^{-6} .
12. Transferir 1mL de la dilución primaria (10^{-1}) en otro tubo conteniendo 9 mL del diluyente estéril, evitando el contacto entre la puntilla y el diluyente el cual será rotulado como 10^{-2} y seguir el paso 10. Esto será consecutivo hasta llegar a la dilución deseada.
13. Utilizar pipetas diferentes para cada dilución inoculando simultáneamente las placas petrifilm que se hayan seleccionado (NMX-110-SSA1-1994).

4.3.2 Recuento de bacterias mesófilas aerobias

Dicho análisis se llevó a cabo mediante el uso de placas petrifilm de acuerdo con la metodología de Villegas y Santos (2010).

1. Se esteriliza todo el material que se utilizará durante el experimento.
2. A partir de las diluciones obtenidas en el paso anterior se continúa con la inoculación.
3. En el caso del queso se trituran 10 gramos y se le agrega 90 mililitros de agua peptonada, se homogeniza la disolución se toma un mililitro de la muestra, para ser sembrada, misma que se hace por repetición, con cada una de las diluciones.
4. Se levanta la película superior de la placa y en el centro se deposita la muestra, con mucho cuidado se deja caer la película evitando formación de burbujas, con la ayuda del difusor plástico presione ligeramente, sin arrastrar el difusor.
5. Incubar a 32 °C por 48 horas.
6. Transcurrido este periodo hacer el conteo de las colonias bacterianas. Los resultados son expresados en unidades formadoras de colonias por mL (UFC/mL).

4.3.3 Recuento de coliformes totales

Material:

- Placas petrifilm para recuento de coliformes totales CC
- Autoclave de tres calores marca AESA
- Campana de flujo laminar
- Incubadora
- Agitador tipo vortex
- Pipetero semiautomático

Se utiliza el mismo procedimiento que en el caso anterior pero con el uso de placas con medio para coliformes.

1. Se esteriliza todo el material que se utilizará durante el experimento.
2. Se toma la muestra y se hacen las diluciones en los tubos con 9mL de agua peptonada, con la ayuda de una pipeta.
3. Se colocan las placas en una superficie plana y lisa.
4. Se levanta la película superior de la placa y con la pipeta de 1mL de manera perpendicular se deposita en el centro la muestra, con mucho cuidado se deja caer la película evitando formación de burbujas, con la ayuda del esparcidor plástico con el lado plano hacia abajo y presione ligeramente, sin arrastrar el esparcidor.
5. Retirar el esparcidor de la placa y esperar a que gelatinice la placa.
6. Incubar a $32^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por $24 \text{ h} \pm 2$ horas.
7. Transcurrido este periodo hacer el conteo (AOAC 986.33 y 989.10).

4.3.4 Recuento de coliformes fecales (*E. coli*)

Material:

Se utilizó el mismo material que para los análisis microbiológicos antes mencionados a diferencia de las placas.

- Placas petrifilm para recuento de coliformes fecales EC

1. Se esteriliza todo el material que se utilizará durante el experimento.
2. Se toma la muestra y se hacen las diluciones necesarias en los tubos, con la ayuda de una pipeta de 1mL.
3. Se levanta la película superior de la placa y en el centro se deposita la muestra, con mucho cuidado se deja caer la película evitando formación de burbujas.

4. Colocar el esparcidor plástico con el lado hacia abajo sobre el centro de la lámina con la ayuda del plástico presione ligeramente, sin arrastrar el difusor.
5. Incubar a $32^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por $48 \text{ h} \pm 3$ horas.
6. Las placas se incuban horizontalmente con el área limpia hacia arriba y no más de 20 placas una sobre otra.
7. Transcurrido este periodo hacer el conteo (AOAC 998.08 y 991.14).

4.3.5 Recuento de *Staphylococcus aureus*

Material:

- Placas Petri film Staph Express, para el recuento de *Staphylococcus aureus*
1. Coloque la placa petrifilm Staph Express en una superficie plana y nivelada; levante la película superior y con la ayuda de una pipeta de manera perpendicular a la placa petrifilm colocar 1mL de la muestra en el centro de la placa.
 2. Deslice cuidadosamente la película superior hacia abajo para evitar atrapar burbujas de aire. No deje caer la película superior.
 3. Aplique suavemente presión con el esparcidor para distribuir el inóculo sobre el área circular antes de que se forme el gel. Levante el esparcidor sin doblarlo o deslizarlo. Espere por lo menos un minuto para que se solidifique el gel. Es importante esparcir la muestra antes de inocular una segunda placa, ya que el gel de la placa petrifilm Staph Express solidifica rápidamente.
 4. Incubar a una temperatura de 35°C por $24 \pm 2\text{h}$; las placas deberán estar cara arriba en grupos de no más de 20 piezas; puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril.

5. Si no hay colonias presentes después de 24 ± 2 horas de incubación, el recuento es de cero y la prueba se considera terminada.
6. En caso de haber crecimiento, cuente las colonias rojo-violeta como *S. aureus*. Las placas pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz.
7. En la primera prueba se utilizan las placas *Staph Express*, una vez incubadas por 24 horas si las colonias son de color diferente al rojo-violeta (negro o azul-verde), se procede a utilizar los discos *S. aureus*.
8. Se levanta la película superior de la placa y se pone un disco, dejando caer la película superior, posteriormente aplique presión firmemente con un dedo por toda la zona del disco, eliminando cualquier burbuja de aire.
9. Incubar por 60 minutos y no más de 3 horas, a una temperatura de 35 a 37°C.
10. Después del tiempo de incubación, se cuentan las zonas rosas, haya o no colonias (AOAC 2003.08).

4.3.6 Contenido de células somáticas

Material:

- Kit “porta SCC”
- Muestra de leche

1. Se hace uso del Kit “porta SCC”.
2. Colocar una gota de muestra en el hueco de la tira de prueba.
3. Colocar sobre la muestra tres gotas de solución activadora.
4. Transcurridos 45 minutos aproximadamente, compare la tira con la tabla de colores o coloque en el lector digital.

NOTA: La tabla de colores se encuentra en el kit.

4.3.7 Determinación de *Salmonella* por el método 1-2 Test

- Para comenzar con el análisis es importante esterilizar todo el material que se va a utilizar dentro del experimento, para evitar una contaminación ajena a la muestra.
- Posteriormente se tiene que pre enriquecer la muestra de acuerdo al procedimiento según Bacteriological Analytical Manual (BAM) – FDA: 2007; descrito a continuación.

1. Pre enriquecimiento de la muestra

- Pesarse asépticamente 25 g de la muestra en un frasco estéril de boca ancha 225 mL de caldo lactosa (CL), agitar suavemente hasta diluir los grumos.
- Dejar 60 minutos \pm 5 minutos a temperatura ambiente, mezclar bien por agitación y determinar el pH con papel indicador. Si es necesario ajustar el pH a 6.8 ± 0.2 con NaOH 1N; incubar por 24 h \pm 2 h a 35°C.

2. Procedimiento de la prueba

- Poner el 1-2 Test con la tapa negra hacia arriba y quitar la tapa, posteriormente agregar una gota del reactivo #1 (Solución de Iodo Ioduro) que se encuentra dentro del kit a la cámara de incubación; tapar y agitar para que se mezclen.



Figura 13.a) Demostración gráfica de la prueba de *Salmonella*.

Fuente: AOAC 989.13

- Poner nuevamente el 1-2 Test con la tapa negra hacia arriba y quitar la tapa; quitar el tapón (plug) de la cámara usando una pinza estéril, desechar el tapón (plug). En caso de que no se quitara el tapón (plug) la bacteria no será capaz de moverse desde la cámara de inoculación hacia la cámara de movilidad.

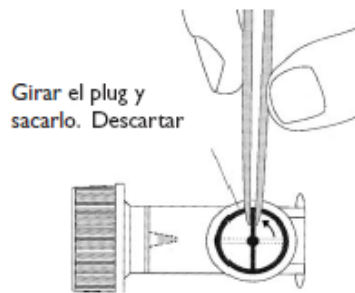


Figura 13.b) Demostración gráfica de la prueba de *Salmonella*.

Fuente: AOAC 989.13

- Antes de inocular, agitar el caldo enriquecido con la muestra; posteriormente transferir 0.1 mL de la muestra enriquecida a la cámara de inoculación.



Figura 13.c) Demostración gráfica de la prueba de *Salmonella*.

Fuente: AOAC 989.13

- Poner el 1-2 Test con la tapa blanca hacia arriba y quitar la tapa; cortar la punta de esta tapa con tijeras estériles y desechar la punta. Se debe cortar donde la punta se junta con el gel de movilidad.

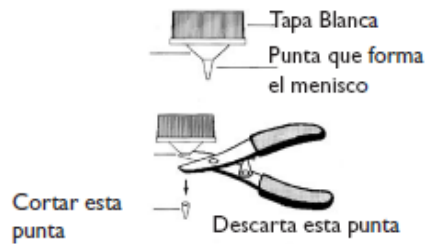


Figura 13.d) Demostración gráfica de la prueba de *Salmonella*.

Fuente: AOAC 989.13

- Agregar una gota del Reactivo #2 (Anticuerpo) que se encuentra en el kit, en el pocillo formado en el gel por la punta de la tapa en la cámara de movilidad. Quite la tapa blanca; con una sola gota del reactivo #2 debe llenar uniformemente las 2/3 partes más bajas del pocillo en el gel. Esto se verifica observando la solución azul de anticuerpos dentro del pocillo. No agregar más de una gota del reactivo #2.



Figura 13.e) Demostración gráfica de la prueba de *Salmonella*.

Fuente: AOAC 989.13

- Colocar el 1-2 Test inoculado con la tapa blanca arriba en la incubadora durante 14 a 30 horas a 35-37 °C.

4.3.7.1 Interpretación de resultados

- Se recomienda usar una luz de alta intensidad para la lectura de los resultados. Con la tapa blanca hacia arriba, colocar el 1-2 Test cerca de la luz y observar cuidadosamente el gel en la cámara de movilidad por todos lados girando el 1-2 Test 360° enfrente a la luz.
- Un resultado será presuntivo POSITIVO cuando hay presencia de una banda blanca (Imunobanda) en forma de U o de menisco. La banda puede estar completa o en un lado del gel y se observa en la mitad más alta de la cámara de movilidad. Esto indicara de forma presuntiva que hay Salmonella en la muestra.

Si no hay la formación de la banda después del tiempo de incubación mínimo de 14 horas, la prueba es NEGATIVA. Los 1-2 Test negativos pueden presentar turbidez a través de la cámara de movilidad como resultado del movimiento de otras bacterias en el gel (AOAC 989.13).

4.3.8 Reducción de resazurina

Material:

- Leche fresca cruda.
- Tubo de ensayo de 20 mL.
- Solución acuosa de resazurina (5mg en 100 mL de agua).
- Pipeta de 10 mL.
- Pipeta de 1 mL.
- Baño maría (a 38 ° C).
- Gradilla para tubos de ensayo.
- Termómetro de mercurio.

1. En el tubo de ensayo poner 10mL de leche.
2. Agregar al tubo 1 mL de solución de rezasurina.

3. Agitar bien cada tubo por “golpeo” ligero, con los dedos; que toda la leche se tiña de azul-malva.
4. Colocar el tubo en la gradilla e introducir esta en baño maría, a 38 °C.
5. Dejar incubado pero observar la coloración de la leche al cabo de una hora, para efectuar un juicio de apreciación de la carga microbiana (Villegas y Santos, 2010).

4.4 Análisis fisicoquímicos de leche de cabra

4.4.1 Análisis con equipo Lactoscan

1. Se hace uso del equipo ultrasónico Lactoscan marca HYCEL, modelo S-L60.
2. Encender el equipo y programar el analizador según el tipo de muestra.
3. Colocar 25 mL de leche en el portamuestras.
4. Pulsar Enter para iniciar el análisis.
5. Una vez transcurrido el análisis se deberá limpiar el equipo colocando agua purificada a 40 °C en el portamuestras.
6. Programar el analizador en el modo de limpieza.

4.4.2 Medición de pH

1. Encender el pHmetro marca HACH sension 5 y calibrar con un buffer de pH 7.0; preferentemente también con uno de pH 4.0.
2. Colocar la muestra de leche en el vaso de precipitados (hasta 2/3 del volumen del recipiente).
3. Introducir el electrodo del pHmetro (el bulbo de vidrio solamente).
4. Dejar inmerso el bulbo unos 15 segundos.
5. Enjuagar el electrodo en agua destilada y secar con un pañuelo de papel absorbente sin frotar.

4.4.3 Acidez titulable

Disponer la bureta en el soporte universal.

1. Llenar la bureta con la solución de NaOH, 0.1N.
2. Homogeneizar la leche, tomar con la pipeta 9 mL y colocarla en un vaso de precipitado.
3. Agregar tres gotas de fenolftaleína.
4. Titular la leche con la solución de NaOH, 0.1N. gota por gota, hasta que adquiriera un color rosa pálido.
5. Registrar el gasto de NaOH, en mililitros.
6. Multiplicar ese gasto por 10, que será el número de grados Dornic de Acidez en la muestra (Villegas y Santos, 2010).

4.5 Análisis estadístico

Una vez reunida toda la información de los análisis realizados en leche y queso, se procedió a su análisis de varianza, mediante el paquete estadístico SAS (2003), para ambiente Windows por el procedimiento GLM (General Lineal Model), con una confiabilidad del 95% y un error de 0.05%.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis de datos se realizaron de tres queserías de la localidad de Alchichica, a partir de leche de cabra recién ordeñada en un horario de 6:30 de la mañana y 6:30 de la tarde en un periodo de tres días consecutivos.

Sin embargo dicho proceso no cumple con los requisitos mínimos que establece el manual de buenas prácticas en producción de leche caprina, por SAGARPA-SENASICA (2000), misma que define a la “higiene como una medicina preventiva, en la calidad microbiológica de la leche y sus subproductos”. Esto se puede atribuir a la falta de conocimiento en cuanto al riesgo latente que se tiene al no realizar buenas prácticas de ordeño y manufactura. Y al mismo tiempo los recursos económicos que cada ordeñador disponen para las instalaciones de dicha actividad.

5.1 Ordeña en hatos caprinos

Se asistió en el momento de la ordeña para poder observar el proceso. Se identificaron los factores que pudieran afectar en la calidad higiénica y composicional de la leche y queso.

En la Figura 14 se muestran algunos momentos del proceso de ordeña. Se observó que el proceso de ordeña no cumple con las Buenas Prácticas de Ganadería (BPG), es decir el conjunto de procedimientos, condiciones y controles que se aplican en las unidades de producción, los cuales incluyen limpieza de instalaciones, equipo y utensilios, higiene y salud del personal para minimizar el riesgo de contaminación física, química y biológica durante la cría, manejo y salud del ganado, todo lo contrario a lo mostrado en las siguientes imágenes.



Figura 14. Condiciones de manejo e higiénicas en el proceso de ordeña de cabras en los hatos experimentales

Las condiciones en las que se encuentra el establo, como son techos y pisos, generan una contaminación cruzada indiscutible en la leche. Otra parte importante son los utensilios utilizados al igual que la higiene misma del personal, cabe señalar que la ordeña ocurre por las mañanas y solo una de las

3 queserías ordeña por la tarde, sin embargo el periodo en el cual se realizó la visita fue en el mes de diciembre y las temperaturas en esa zona alcanzaban los 2 °C temperatura de refrigeración, beneficiosa para conservar el producto sin alteración microbiana por mayor tiempo, sin embargo las bajas temperaturas impedían lavar correctamente los utensilios (cubetas, manos del personal y ubres de las cabras) puesto que el agua que se encontraba en el lugar de ordeña, estaba congelada y el ordeñador no se lavaba las manos de forma adecuada; generando de esta manera una mayor contaminación en la leche y por consiguiente un impacto poco favorable en el queso fresco de aro que se realiza después de dicha actividad; puesto que la leche no lleva ningún proceso térmico anterior a la realización de este producto.

5.2 Pruebas fisicoquímicas en leche de cabra

En el Cuadro 9 se muestra la composición química y parámetros físicos promedio, de la leche de cabra recolectada en las 3 queserías.

Cuadro 9. Análisis fisicoquímico en leche de cabra de tres queserías del Valle del Salado, Puebla.

Análisis	Quesería 1	Quesería 2	Quesería 3	X	DMS	CME
pH	6.58 ^a	6.62 ^a	6.50 ^b	6.57	0.07	0.000677
Acidez Titulable	22.11 ^a	21.27 ^a	22.77 ^a	22.05	3.22	1.227144
Grasa	6.09 ^a	5.13 ^a	6.19 ^a	5.77	1.39	0.229031
SNF	8.46 ^b	8.57 ^{ab}	8.86 ^a	8.63	0.35	0.014958
Densidad	28.46 ^a	29.23 ^a	29.85 ^a	29.18	1.64	0.320028
Lactosa	4.46 ^b	4.53 ^{ab}	4.67 ^a	4.55	0.19	0.004415
Minerales	0.82 ^b	0.82 ^b	0.86 ^a	0.84	0.02	0.000096
Proteína	3.14 ^b	3.21 ^{ab}	3.32 ^a	3.21	0.12	0.001986
Punto Crioscopico	-0.549 ^a	-0.551 ^a	-0.579 ^b	-0.559	0.021	0.000

X=Valor promedio, DMS=Diferencia significativa mínima, CME= Error cuadrado medio.

*Valores con la misma letra en cada fila no son significativamente diferentes Tukey $P \leq 0.05$.

Se observa que las leches de la quesería uno u dos son estadísticamente iguales en las 9 variables analizadas, esto se puede atribuir a que las cabras de estas queserías tienen una alimentación similar, tal como lo menciona Vega, *et al* (2007); ya que es 100% pastoreo a diferencia de la quesería tres que es semi estabulada; y de igual forma ambas queserías realizaban su única ordeña por las mañanas. La quesería tres se diferencia estadísticamente de las queserías uno y dos en las variables pH, minerales y punto crioscópico, el pH tuvo poca variación, y este puede ser atribuido a que las cabras de la quesería tres son ordeñadas por la tarde, en donde la temperatura es mayor en comparación con la de la mañana, esto influye en el crecimiento bacteriano con mayor facilidad mismo que conlleva a un descenso en el pH.

Con respecto al punto crioscópico obtenido en el estudio, es menor siendo este de -0.559 en comparación al parámetro establecido por la NOM-155-SCFI-2003 que es de -0.515 a -0.536; de acuerdo a Quiles Sotillo y Hevia Méndez, (2007) esto tiene relación con la acidez presentada en la leche, puesto que a mayor acidez más bajo el punto de congelación.

Los parámetros de acidez titulable, contenido de grasa y densidad estadísticamente son iguales en las tres queserías; teniendo un promedio de 2.2 g/L, 5.77% y 1.029 gr/mL respectivamente, a diferencia del primer parámetro los dos restantes entran dentro de los parámetros según Villegas De Gante (2004), por otro lado la leche cruda generalmente presenta una acidez de 1.3 a 1.6 g/L, expresada como ácido láctico (NMX-F-700-COFOCALEC, 2004). Cuando la carga microbiana es muy alta la acidez alcanza un valor alrededor de 2.2 g/L, ocasionando que las proteínas de la leche se precipiten con el calentamiento, lo que indica que no puede ser sometida al proceso de pasteurización.

Se sabe que la influencia del contenido composicional de grasa y proteína de una leche, son variables importantes para la elaboración de quesos; comparando los promedios de estas dos variables de las 3 queserías con lo establecido por Villegas (2004), donde señala que los valores promedios de una leche de cabra para grasa es de 4.5% y para proteína de 3.2%, se observa que el resultado del análisis de grasa para las tres queserías es de 5.7% en promedio, mismo que rebasa al dato establecido por Villegas (2004), resaltando que la elaboración de quesos con un alto contenido de grasa, es uno de los indicativos para el deterioro del queso por la rancidez de las grasas. Por otro lado la proteína se encuentra dentro de lo establecido, teniendo un promedio de 3.2%.

5.3 Pruebas microbiológicas en leche de cabra

En este estudio, los recuentos totales aerobios mesófilos son importantes ya que como lo cita Araya *et al.* (2008), es el que define la calidad higiénica de la leche producida.

Araya *et al.* (2008) destaca que la leche de cabra debe presentar recuentos menores a los de la leche de vaca, porque las probabilidades de adquirir materia fecal y agregar más flora bacteriana al producto se reducen a causa de tener un excremento más seco por lo que hay menores probabilidades de contaminar la leche.

5.3.1 Células somáticas (CS)

La cantidad de células somáticas presentes permite especular si la leche se encuentra en óptimas condiciones para su procesamiento. El resultado fue a partir de la leche obtenida por ordeño y no por ubre que sería lo adecuado. En el Cuadro 10 se muestra que estadísticamente las 3 queserías son iguales ya que la Diferencia Media Significativa es mayor a la que presenta cada

tratamiento, con un error mayor a 0.05. De acuerdo a lo establecido por la NMX-F-700-cofocalec-2012, la leche es clasificada como clase 1 (≤ 400000 CS/mL).

Cuadro 10. Estimación de células somáticas en leche de cabra en tres queserías del Valle del Salado.

Análisis	Quesería 1	Quesería 2	Quesería 3	DMS	CME
Células Somáticas	150 ^a	583.3 ^a	277.8 ^a	517.72	31652.38

DMS=Diferencia significativa mínima, CME= Error cuadrado medio.

*Valores con la misma letra en cada fila no son significativamente diferentes Tukey $P \leq 0.05$.

5.3.2 Resazurina

Al igual que el conteo de células somáticas, el cambio de color en la prueba de resazurina, es una prueba rápida que indica la presencia de bacterias en la leche analizada.



Figura 15. Coloración de la prueba de resazurina de las tres queserías del Valle del Salado.

Como se puede observar en la figura anterior presenta una coloración Rosa-Violeta, lo que comparado con la NMX-F-700-COFOCALEC-2012, se denomina como una leche de calidad regular, tal como se indica en el siguiente cuadro.

Cuadro 11. Clasificación de la calidad microbiológica de acuerdo a la decoloración de resazurina con forme a la NMX-F-700-COFOCALEC-2012.

Coloración de la leche	Calidad de la leche
Azul Violeta Malva	Buena
Rosa-Violeta Malva-Rosa Rosa	Regular
Decoloración total	Mala

Fuente: NMX-F-700-COFOCALEC-2012.

5.3.3 Conteo microbiano de leche de cabra

En los resultados microbiológicos mostrados en el Cuadro 12 las 3 queserías son estadísticamente iguales a excepción de la prueba de *Staphylococcus*, la quesería 2 es superior estadísticamente de la quesería 1 y 3, debido a que presentan una diferencia mínima significativa (DMS) por arriba de 280.67.

Cuadro 12. Recuento microbiano de leche de cabra de tres queserías de Valle del Salado.

Análisis	Quesería 1	Quesería 2	Quesería 3	DMS	CME
(UFC/mL de leche)					
Cuenta total	376,033 ^a	572,767 ^a	2,868,544 ^a	4.32E+06	2.20E+12
Coliformes					
Totales	62,800 ^a	214,222 ^a	862,467 ^a	1.68E+06	3.35E+11
<i>E. coli</i>	963.2 ^a	1,390 ^a	22.3 ^a	2,846.2	956,610.4
<i>Staphylococcus</i>	68.67 ^b	553.33 ^a	269.33 ^b	280.67	9302.944

DMS=Diferencia significativa mínima, CME= Error cuadrado medio.

*Valores con la misma letra en cada fila no son significativamente diferentes Tukey P≤0.05.

Como se puede observar en Cuadro 12, la quesería 2 presenta una cantidad superior de colonias en el conteo total de *E. coli*, y *Staphylococcus* en comparación a las otras queserías, esto podría atribuirse con relación a lo observado dentro del proceso de ordeña, que el ordeñador de la quesería 2, no limpiaba las ubres con ninguna solución antiséptica o algún otro material, más que con su propia mano y las condiciones higiénicas del corral eran completamente diferentes (con estiércol, durante la actividad de ordeña) en comparación con las queserías antes señaladas. Esto aunado a que el corral esta desprotegido, porque se encuentra en una zona abierta, da como resultado un incremento en la presencia de microorganismos patógenos.

Sin embargo el 100% de las muestras de leche presentaron recuentos de coliformes totales superiores a los límites establecidos por la norma NOM-243-SSA1-2010 que es ≤ 100 UFC/g o mL.

En este estudio se determinó que la quesería 3 presento un conteo de 2,868,544 UFC/mL clasificando a la leche como clase 4 misma que va de 600 000 a 1 200 000 UFC/mL de acuerdo a la NOM- 243- SSA1-2010; límite no cumplido por esta muestra.

Cuadro 13. Comparación de la calidad microbiológica de la leche de cabra con respecto a normas oficiales mexicanas.

Microorganismo	Límite máximo NOM-243-SSA1-2010.	Promedio de las 3 queserías
Coliformes totales	≤ 20 UFC/g o mL	379829 UFC/mL
<i>Staphylococcus</i>	≤ 10 UFC/ mL	297 UFC/mL
<i>Salmonella spp</i>	Ausente en 25g o mL	Negativo
<i>Escherichia coli</i>	≤ 3 NMP/g o mL	791 UFC/mL

En el cuadro anterior se puede observar que de acuerdo a la NOM-243-SSA1-2010, ninguno de los análisis realizados entra dentro de los parámetros establecidos por dicha norma a excepción de *Salmonella* que salió negativo. Y

los resultados observados en cada uno de los análisis microbiológicos presentan un crecimiento notable, por lo que se deduce que es el factor predominante en la vida útil de los quesos.

5.4 Análisis microbiológico de queso de Aro

En el siguiente cuadro se puede observar que las tres queserías son estadísticamente iguales en los análisis de cuenta total, coliformes totales y *E. coli*, debido a que en sus resultados no muestra diferencia significativa alguna, por otro lado en los resultados de *Staphylococcus* observa que la quesería 2 es estadísticamente similar a la quesería 1 y a la quesería 3, pero la quesería 2 y 3 son completamente diferentes entre sí.

Cuadro 14. Recuento microbiano en queso de Aro de tres queserías del Valle del Salado

Análisis	Quesería 1	Quesería 2	Quesería 3	X	DMS	CME
Cuenta Total	115189 ^a	131289 ^a	4882100 ^b	1709526	4.32E+00	2.20E+12
Coliformes totales	21737 ^a	69667 ^a	981789 ^b	357730.8	1.68E+06	3.35E+11
<i>E. coli</i>	56444 ^a	70667 ^a	51611 ^a	59574.07	2846.2	956610.4
<i>Staphylococcus</i>	0 ^b	16.67 ^{ab}	50.17 ^a	22.27778	280.67	9302.944

Cabe destacar que de este recuento microbiano, la quesería 3 tiene un conteo mayor al de las queserías 1 y 2; Figura 16 se demuestra que si influye la calidad higiénica sanitaria de la materia prima, que es la leche, en la calidad del producto terminado visto en el Cuadro 14 puesto que la quesería 3 es la que presenta mayor conteo de UFC tanto en leche como en queso.

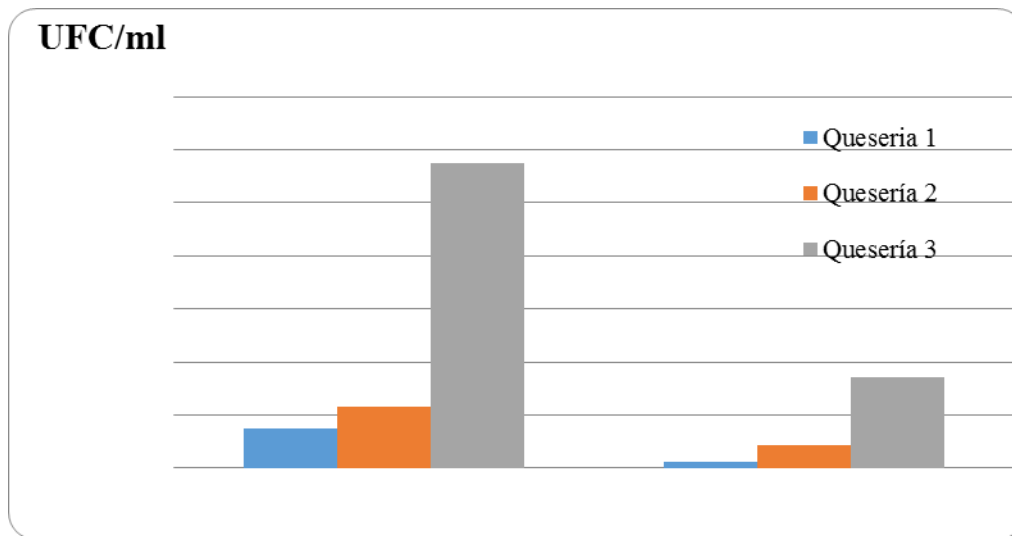


Figura 16. Recuento microbiano (UFC/mL) en leche de cabra de tres queserías del Valle del Salado.

Por otro lado los resultados obtenidos para el recuento total aerobio son altos, lo cual indica contaminación post proceso proveniente del material o al momento de la manipulación en su elaboración, provocando una disminución en la vida útil del producto, siendo esta de 5 días en promedio, no alcanzando los 9 días a 10°C según Carrillo Inungaray *et al.* (2011).

De manera semejante el 100% de las muestras de leche presentaron valores de coliformes fecales por encima de lo estipulado en la NOM-243-SSA1-2010. La presencia de este alto número de coliformes indica contaminación directa con materia fecal y sugiere un riesgo indirecto de adquisición de otras bacterias patógenas que se transmiten mediante dicha vía.

Las muestras de queso evaluadas no se pueden considerar de riesgo por intoxicación alimentaria causada por *S. aureus*, ya que los recuentos obtenidos son relativamente bajos teniendo un promedio de 280 UFC/gr en comparación con lo establecido por la norma NOM-243-SSA1-2010 que es de 1000 UFC/g y

más bien sugieren adecuada manipulación a pesar de que el ordeño de cabras y el procesamiento del queso son con frecuencia de tipo manual.

No se logró aislar *Salmonella* spp. a partir de las muestras de leche y queso evaluadas lo cual coincide con lo estipulado por la norma NOM-243-SSA1-2010.

Contrario a lo anterior, en años recientes se ha descrito, a nivel mundial, brotes debidos al consumo de leche de cabra cruda y productos elaborados con leche no procesada, causados especialmente por *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC), *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* y *Campylobacter jejuni* según Araya *et al.* (2008).

Con los resultados obtenidos de esta investigación se sugiere que, a pesar de no haber aislado microorganismos patógenos, las muestras evaluadas tanto de leche como de queso presentan altas concentraciones de microorganismos indicadores, por lo que la presencia de patógenos es factible, representando un riesgo para la salud pública. Además, estas altas concentraciones de microorganismos también propician un deterioro acelerado del producto. Es necesario mejorar la calidad integral de la leche de cabra, incluyendo algún tipo de proceso de higienización antes de su uso, con el fin de ofrecer un producto seguro a la población y una buena materia prima para la elaboración de quesos. Razón por la cual es imprescindible contar con certificados de animales productores sanos así como con buenas prácticas de manejo, higiene y procesamiento de la leche como del queso de Aro.

CONCLUSIONES Y/O RECOMENDACIONES

En este trabajo se evaluó la calidad microbiológica de la leche y queso de cabra de tres -hatos queserías de la cuenca del Valle del Salado, Puebla. De lo cual se concluye lo siguiente.

1. De acuerdo con la NMX-F-700-COFOCALEC-2012, con valores de 57.77 g/L para grasa, y de 32.11 g/L para proteína, la leche puede clasificarse como clase A, es decir que su contenido de grasa butírica es mayor a 32 g/L y de proteínas totales rebasan los 31 g/L clasificándola como una leche de calidad.
2. Los resultados comparados con la NOM-243-SSA1-2010, demuestra que ninguna quesería tanto en leche como en queso cumplen con los límites permisibles en recuento bacteriano, a excepción de *Salmonella* en donde las 3 queserías resultaron negativas. Por otro lado el recuento de células somáticas en leche de acuerdo con la NMX-700-COFOCALEC-2012, se puede clasificar como una leche de clase 1.
3. Se observó que en la quesería 3 en la mayoría de los resultados de los análisis microbiológicos como son cuenta total, coliformes totales y *Staphylococcus* resulto con un promedio mayor a la quesería 1 y 2, esto se podría deber a que la ordeña realizada en la quesería 3 fue en un horario diferente a las dos anteriores, puesto que en esta última se realizaba por la tarde, al igual que su alimentación era semiestabulada, caso contrario de las primeras que era totalmente pastoreo; haciendo mención de que la temperatura es uno de los factores extrínsecos que influyen en el desarrollo y crecimiento bacteriano, cabe señalar que la experimentación se realizó en el mes de diciembre y que la zona a evaluar en este periodo es muy fría, teniendo por las mañanas

temperaturas bajo cero impidiendo el crecimiento microbiano, lo que se podría relacionar con los resultados antes descritos.

4. Haciendo referencia a la hipótesis planteada al inicio de la tesis, donde se menciona que las deficiencias en la aplicación de las Buenas Prácticas de Producción y Manufactura, en la ordeña y la elaboración del queso de Aro, respectivamente, se vería reflejado en las características microbianas y fisicoquímicas; mismas que pudieran determinar la vida de anaquel del queso de Aro. Señalado esto se concluye que los resultados confirman esta posibilidad y es necesario realizar estudios para determinar, ahora la vida de anaquel del queso de Aro del Valle del Salado, Puebla.

RECOMENDACIONES

- Establecer un área de ordeña con las condiciones necesarias en donde se pueda trabajar con buenas prácticas de ordeña y evitar la contaminación de la leche.
- Llevar a cabo el proceso de pasteurización antes de realizar la elaboración del queso de Aro, lo que garantizara la eliminación de los microorganismos presentes en la materia prima.
- Estandarizar el proceso de elaboración de queso de Aro, lo que permitirá a los productores, establecer una vida de anaquel aproximada, al igual que las características físicas y sensoriales del producto.

LITERATURA CITADA

- Ⓒ Antonio Madrid Vicente. (1999). Tecnología Quesera. Segunda Edición. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Ⓒ Cenzano I. (1992). Los Quesos. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Ⓒ Cofré Banderas P. (2001). Producción de Cabras Lecheras. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Boletín INIA No. 66. Chillán, Chile.
- Ⓒ Corcy, J. C. (1993). La cabra, Ediciones Mundi-prensa. Madrid, España.
- Ⓒ Dilanjan S. Ch. (1984). Fundamentos de la Elaboración del Queso. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
- Ⓒ Frazier W.C., Westhoff D. C. (1993). Microbiología de los Alimentos. Cuarta edición española. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza, España.
- Ⓒ James M. Jay. (1994). Microbiología Moderna de los Alimentos. Tercera edición. Editorial Acriba, S.A. Zaragoza, España.
- Ⓒ Luquet M. F. (1991). Leche y Productos Lácteos vaca – oveja – cabra. Volumen 1. La leche de la mama a la lechería. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza, España.
- Ⓒ Luquet M. F. (1993). Leche y Productos Lácteos vaca – oveja – cabra. Volumen 2. Los productos lácteos, transformación y tecnología. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza, España.
- Ⓒ Manual de uso de equipo LactoScan S-L 60 marca HYCEL. (2010).

- ④ Mahaut M., Jeantet R., Brilé G. (2003). Introducción a la Tecnología Quesera. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.

- ④ Métodos Oficiales AOAC (986.33 y 989.10). 3M. Petrifilm. Placas para Recuento de Coliformes.

- ④ Métodos Oficiales AOAC (998.08 y 991.14).3M. Petrifilm. E. coli.

- ④ Métodos Oficiales AOAC (2003.08). Método de la placa Petrifilm Staph Express 3M para la enumeración de *Staphylococcus aureus* en tipos Productos lácteos.

- ④ Método Oficial AOAC (989.13). 1-2 Test.

- ④ Norma PROY- NMX-F-700-COFOCALEC-2012. Sistema Producto-Leche-Alimento-Lácteo-Leche Cruda de Vaca-Especificaciones Fisicoquímicas, Sanitarias y Métodos de Prueba.

- ④ Norma Oficial Mexicana NOM-121-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Quesos: Frescos, Madurados y Procesados. Especificaciones Sanitarias.

- ④ Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010. Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

- ④ Norma Oficial Mexicana NMX-110-SSA1-1994). Bienes y Servicios. Preparación y Dilución de muestras para su análisis microbiológico.

- ④ Pascual Anderson Ma. Del R., Caldeón y Pascual V. (2000). Microbiología Alimentaria, Metodología analítica para alimentos y bebidas. Segunda edición. Editorial Díaz de los Santos. Madrid, España.
- ④ Quiles Sotillo A., Hevia Méndez Ma.L., (2007). Propiedades Físicas de la Leche de Cabra. Editorial Agrícola Española.
- ④ Santos Moreno Armando. Química y Bioquímica de Alimentos. Universidad Autónoma Chapingo. México. Edición 1995.
- ④ Villegas G. A, Santos M. A. (2010). Calidad de Leche Cruda, Pruebas de calidad fisicoquímica, Cinética de acidificación de la leche cruda, Detección y efectos de inhibidores en leche cruda. Editorial Trillas. México.
- ④ Villegas De Gante A. (2003). Manual de prácticas. Tecnología de alimentos de origen animal (Leche y Carne). Universidad Autónoma Chapingo. México.
- ④ Villegas De Gante A. (2004). Tecnología Quesera. Primera edición. Editorial Trillas. México.
- ④ Villegas G. A, Santos M. A. (2009). Manual Básico para la Elaboración de Productos Lácteos. Editorial Trillas. México.
- ④ Wolfgang Scholz. (1997). Elaboración de quesos de oveja y cabra. Editorial Abribia S.A. Zaragoza, España.

Páginas de internet

- ④ Carrillo Inungaray Ma. L., Mondragon Hernández F.M. Estudio de vida útil del queso asadero. Revista Salud Pública y Nutrición [en línea]. Julio-Septiembre 2011, vol. 12, No. 3. Fecha de consulta Abril 2014.
www.respyn.uanl.mx/xii/3/articulos/queso.htm
- ④ De la Rosa Carbajal Sebastian. (2011). Manual de Producción Caprina, Capítulo 5, Base Animal y Mejora Genética. Primera edición. Editorial Formosa. Fecha de consulta Marzo 2012.
<http://ppryc.files.wordpress.com/2011/04/capitulo-5.pdf>
- ④ Guerrero Cruz Ma. M. (2010). La Caprinocultura en México, Una Estrategia de Desarrollo. Volumen 1. Número 1. Revista Universitaria Digital de Ciencias Sociales.
<http://www.cuautitlan.unam.mx/rudics/ejemplares/0101/art06.html>
- ④ INEGI. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2011). Ubicación de Libres y San José Alchichica Puebla.
<http://www.inegi.org.mx>
- ④ Molina A. J. de la C., Gaviria B. C. (2007). Calidad Composicional Higiénica y Sanitaria, Sección 3. Editorial Biogenesis. Fecha de consulta Febrero 2012.
<http://editorialbiogenesis.udea.edu.co/index.php/biogenesis/article/view/39>
- ④ Quiles Sotillo A., Hevia M.L. Propiedades de la Leche de Cabra. Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. Fecha de consulta: Junio 2015.

http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_Ganad%2FGanad_2001_6_53_55.pdf

- Ⓒ SAGARPA, SENASICA. 2000. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca, Alimentación. Manual de Buenas Prácticas en Producción de Leche Caprina. Fecha de consulta Diciembre 2011.
http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Lists/Manuales%20de%20Buenas%20Prcticas/Attachments/3/manual_cabra.pdf

- Ⓒ SIAP-SAGARPA. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), con información de las delegaciones de la SAGARPA. Fecha de consulta Marzo 2012.
<http://www.siap.gob.mx/ganaderia-resumen-nacional-pecuario/>

- Ⓒ S. Vega, R. Gutiérrez, Acacia Ramírez, Magdalena González, G. Díaz-González, J. Salas, Clementina González, Marta Coronado, Beatriz Schettino y A. Alberti. Características Físicas y Químicas de Leche de Cabra de Razas Alpino Francesa y Saanen en Epocas de Lluvia y Seca. Revista de Salud Animal [en línea]. Septiembre-Diciembre 2007. Volumen 29. No. 3. Fecha de consulta: Junio 2015.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2007000300006

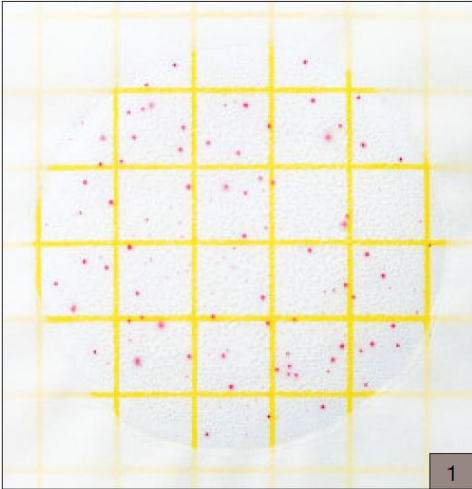
- Ⓒ Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogota. Dirección Nacional de Innovación Académica, Biología Virtual. Fecha de consulta Junio 2012.
http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/2000024/lecciones/cap01/01_01_04.htm

© Viviana Araya, Leslie Gallo, Carlos Quesada, Carolina Chaves y María Laura Arias. 2008, Evaluación bacteriológica de la leche y queso de cabra distribuidos en el Area Metropolitana de San José, Costa Rica. Revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición [en línea]. Junio 2008. Volumen 58. No. 2. Caracas. Fecha de consulta: Junio 2015.

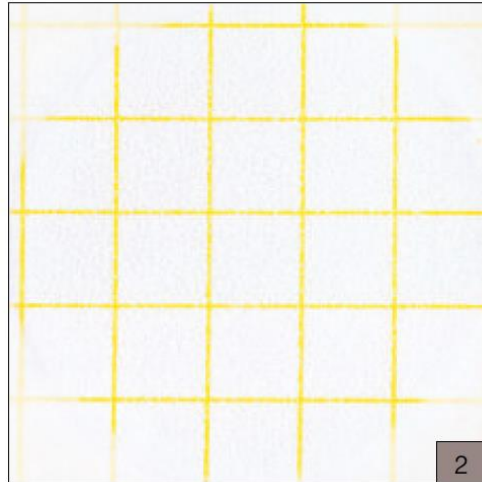
http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222008000200010

ANEXOS

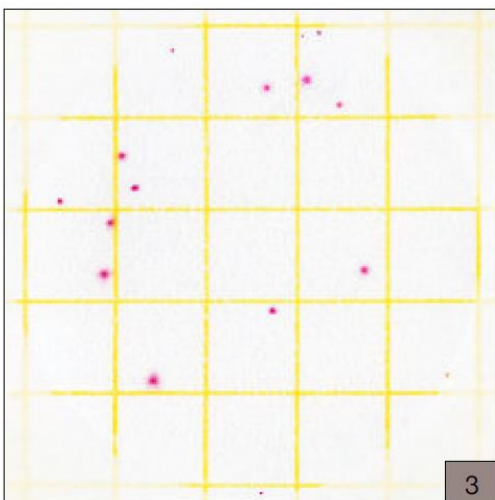
A1. Interpretación de resultados para el recuento de mesofilicos aerobios



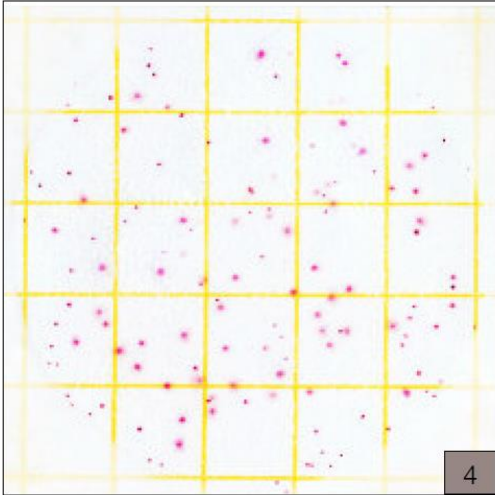
El tinte indicador rojo que se encuentra en la placa colorea las colonias, para su mejor identificación. Cuento todas las colonias rojas sin importar su tamaño o la intensidad del tono rojo.



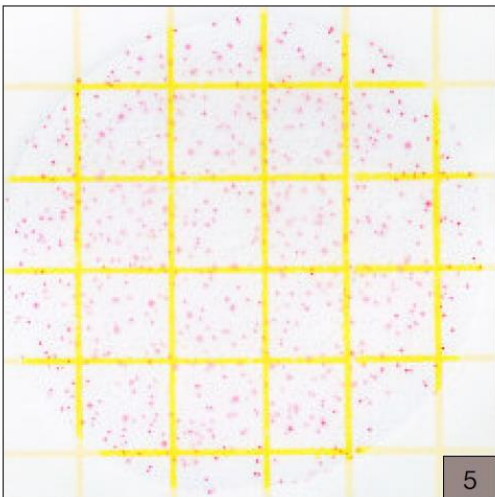
La placa petrifilm para recuento de aerobios, es de fácil interpretación, en esta figura no se observa ningún crecimiento microbiano.



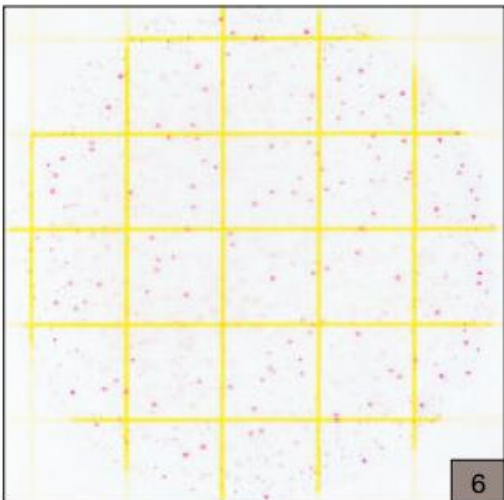
En esta figura se muestra poco crecimiento microbiano pero bien identificado.



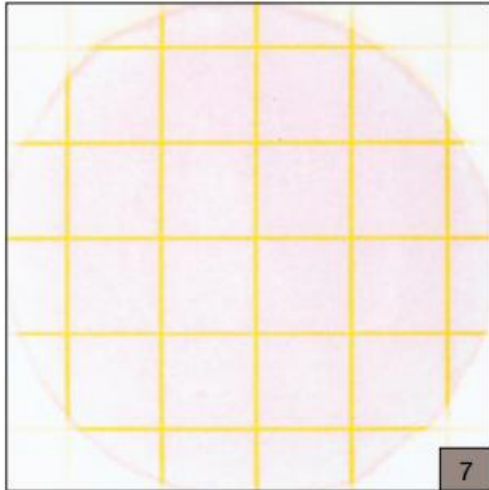
El rango recomendado de recuento en la placa petrifilm está entre 25-250 colonias.



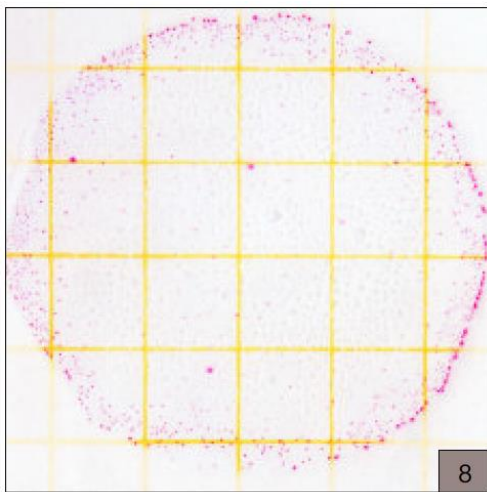
Cuando el número de colonias es mayor a 250 (como se muestra en la figura 5), por su excesivo crecimiento los recuentos deben ser estimados. Determine el promedio de colonias en un cuadro (1cm) y multiplíquelo por 20 para obtener el recuento total por placa. El área de incubación de petrifilm es de 20cm.



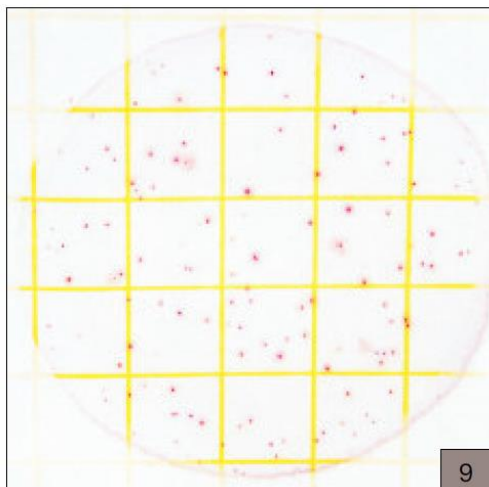
En esta figura se encuentra una placa con gran cantidad de colonias, por lo tanto son Muy Numerosas Para Contar (MNPC).



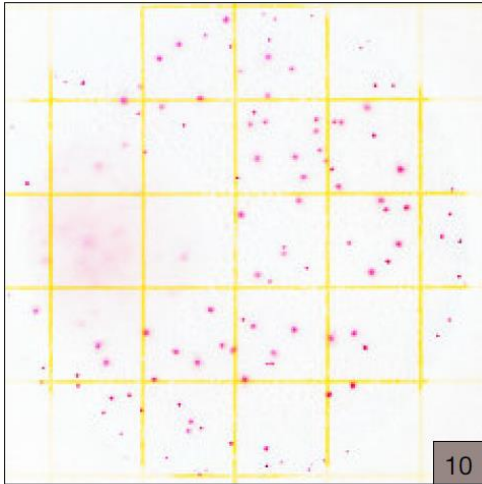
Con recuentos muy altos, el área total de crecimiento puede variar o colorearse rosa, como se muestra en esta figura. Se podrían observar colonias individuales en el filo o borde del área de crecimiento. Por lo que este conteo se registrara como MNPC.



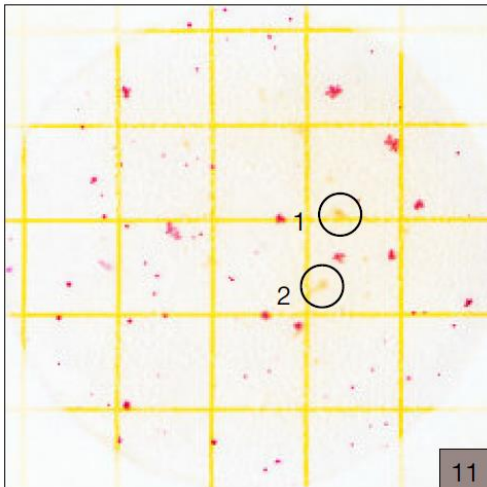
Ocasionalmente, la distribución de las colonias puede aparecer de forma desigual, no homogénea, como se muestra en la figura 8. Esto también es una indicación de un resultado MNPC.



En esta figura se puede confundir como contables a primera vista. Sin embargo, si observa detalladamente el borde o filo del área de crecimiento, podrá visualizar una alta concentración de colonias así que se registra como MNPC.

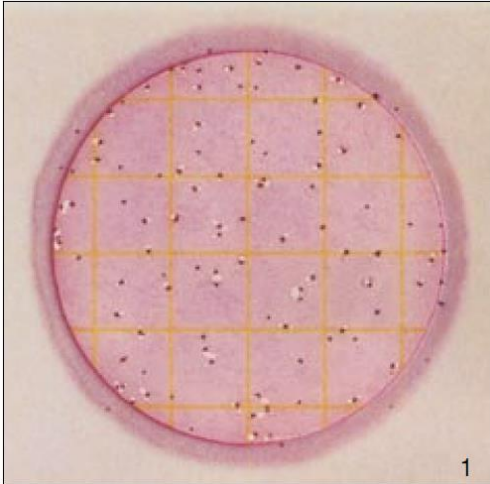


Como se aprecia en la figura 10, algunas especies de bacterias pueden llegar a licuar el gel de las Placas Petrifilm. Cuando esto ocurra, determine el promedio en los cuadros no afectados y estime los resultados.

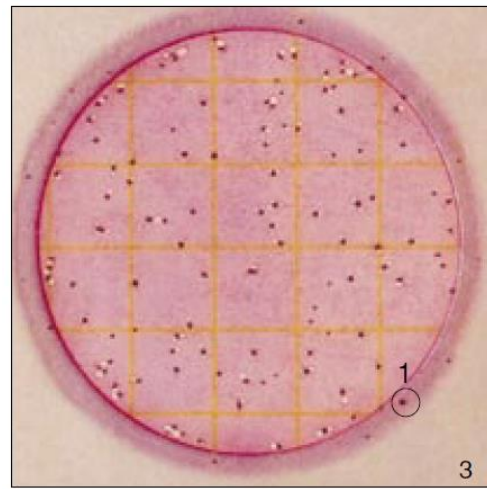
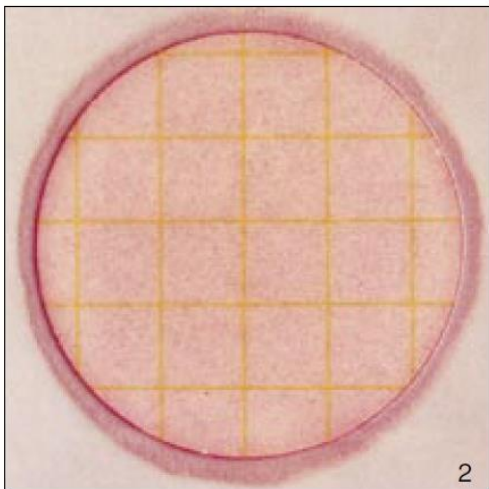


Debido a que en las Placas Petrifilm las colonias de aerobios se tiñen de rojo, se las puede diferenciar de partículas o residuos de producto, ya que éstos tienen una forma irregular y color opaco (observe los círculos 1 y 2 de la figura 11).

A2. Interpretación de resultados para el recuento de coliformes totales



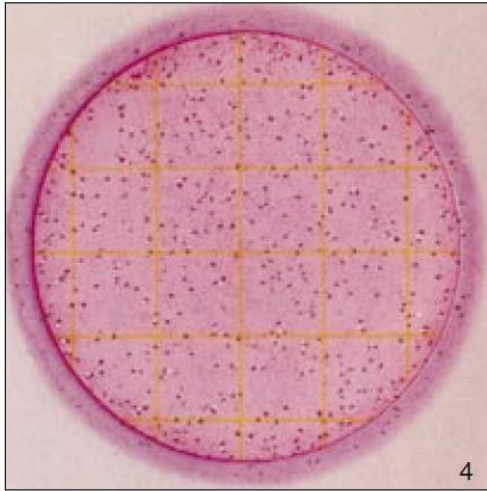
La identificación de los coliformes puede variar de país a país, por ello es recomendado seguir la guía de uso para la temperatura y tiempo de incubación.



Observe el cambio de color del gel en las figuras 2 a 5. Mientras el recuento de los coliformes aumenta, el color del gel se oscurece.

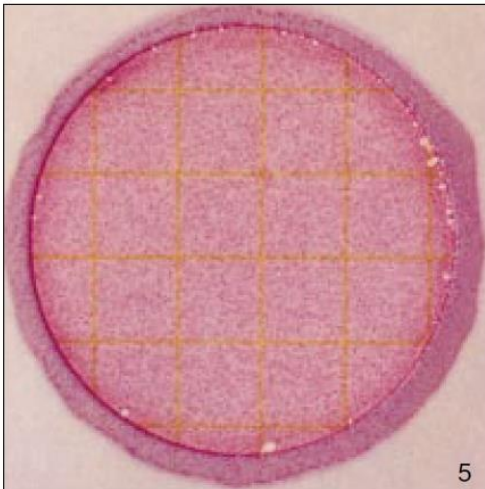
Las burbujas del fondo son características del gel y no son un resultado del crecimiento de los coliformes.

No cuente las colonias que aparecen sobre la barrera de espuma, ya que han sido removidas de la influencia del medio selectivo. Ver el círculo 1.

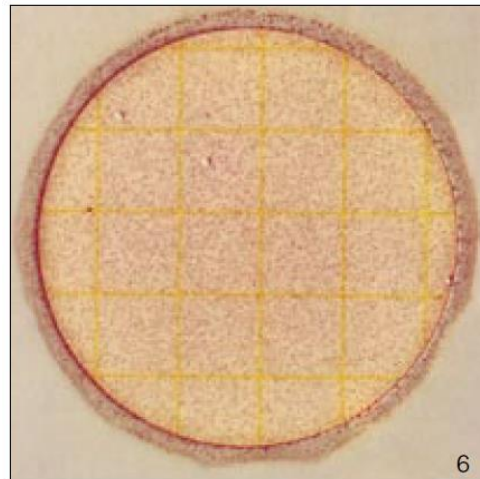


El área de crecimiento circular es cerca de 20 cm^2 . Los estimados pueden hacerse en placas que tienen más de 150 colonias, como resultado de contar las colonias en uno o más cuadrados representativos y de determinar el promedio por cuadrado. Multiplique el número promedio por 20 para determinar el recuento estimado por placa.

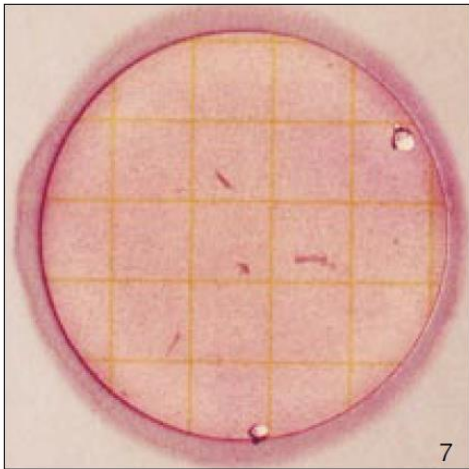
Para un recuento más preciso, se recomienda una dilución adicional de la muestra



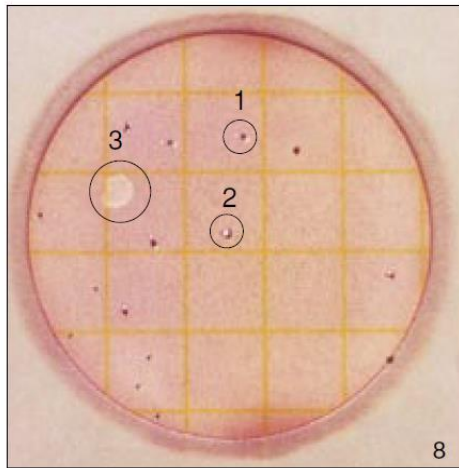
Las Placas Petrifilm CC con colonias MNPC (Muy Numeroso Para Contar) tienen una o más de las siguientes características: muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas y un oscurecimiento del color del gel.



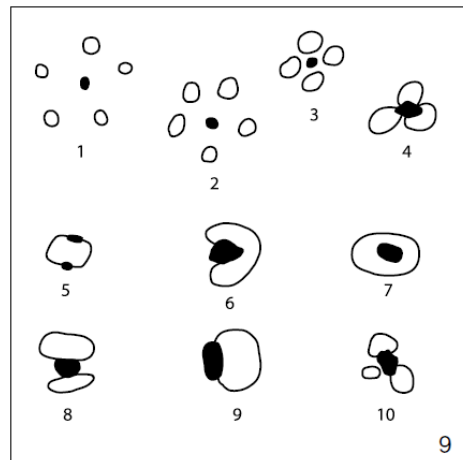
Cuando un número alto de organismos no-coliformes, como las Pseudomonas, estén presentes en las Placas Petrifilm CC, el gel puede volverse amarillo.



Las partículas de alimento tienen forma irregular y no tienen burbujas de gas.

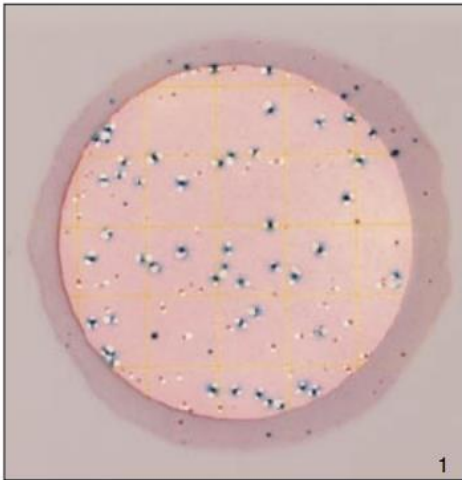


Los patrones de burbujas pueden variar. El gas puede romper la colonia y así, esta última 'delinea' a la burbuja. Vea los círculos 1 y 2. Las burbujas pueden aparecer como resultado de una inoculación impropia o de aire atrapado dentro de la muestra. Tienen una forma irregular y no se asocian con una colonia. Ver el círculo 3.

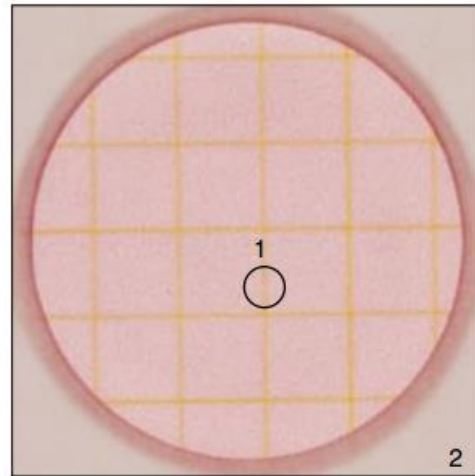


Los ejemplos del 1 al 10 muestran varios patrones de burbujas con colonias que producen gas. Todas deben ser enumeradas.

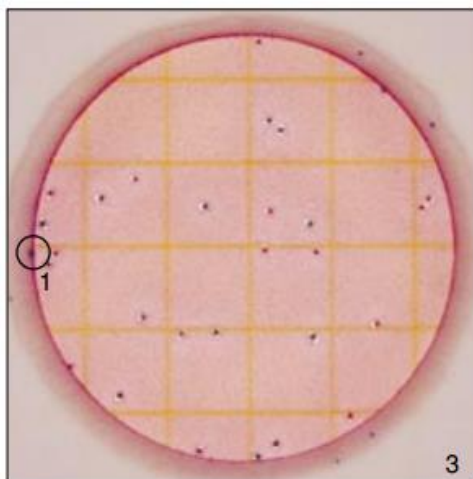
A3. Interpretación de resultados para el recuento de coliformes fecales



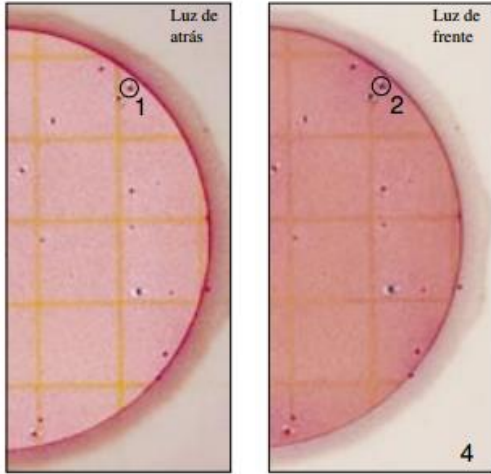
Cerca del 95% de las *E. coli* producen gas, representado por colonias entre azules y rojo-azules asociadas con el gas atrapado en la Placa Petrifilm EC. UFC *E. coli* 49, UFC de coliformes totales 87.



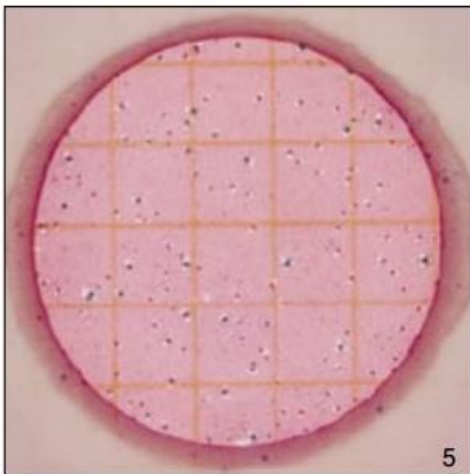
Observe el cambio de color del gel de las figuras 2 a la 8. Mientras el recuento de *E. coli* o coliformes aumenta, el color del gel se vuelve rojo oscuro o púrpura azulado. Las burbujas del fondo son características del gel y no son el resultado del crecimiento de *E. coli* o coliformes. Ver el círculo 1.



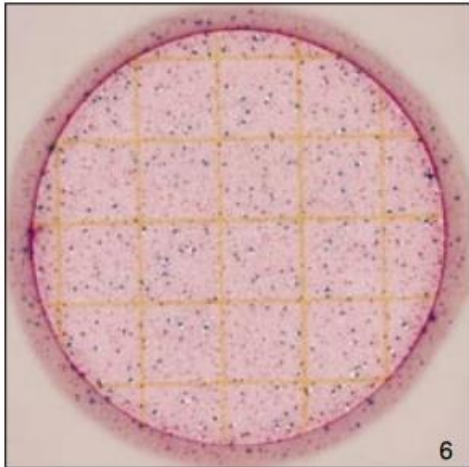
No cuente las colonias que parecen sobre la barrera de espuma, ya que han sido removidas de la influencia del medio selectivo. Ver el círculo 1. UFC de *E. coli* 13, UFC coliformes totales 28.



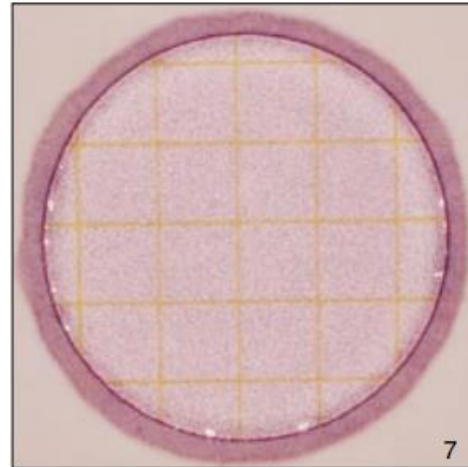
Cualquier azul en una colonia (de azul a rojo-azul) indica la presencia de *E. coli*. La luz de frente mejorará la detección del precipitado azul formado por una colonia. El círculo 1 muestra una colonia rojo-azul cuyo conteo se hizo con luz de atrás. El círculo 2 muestra la misma colonia con luz de frente el azul precipitado es más evidente en el círculo 2. UFC *E. coli* 3.



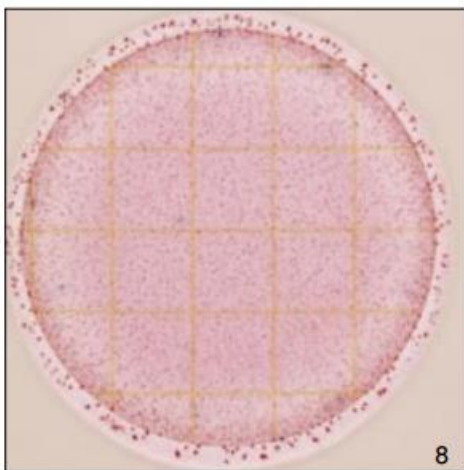
El área circular de crecimiento es de aprox. 20 cm². El recuento estimado se puede hacer en las placas que contienen más de 150 colonias, al contar el número de colonias en uno o más de los cuadrados representativos y al determinar el promedio por cuadrado. Multiplique el número promedio por 20 y determine el conteo estimado por placa. UFC de *E. coli* 17. UFC de coliformes totales 150.



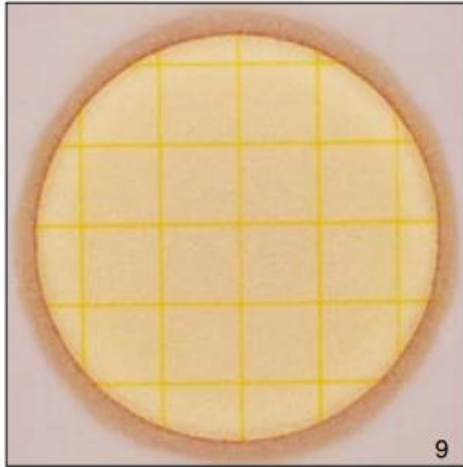
Las Placas Petrifilm EC con colonias que son MNPC, tienen una o más de las siguientes características: Muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas y el oscurecimiento del gel de un color rojo a un azul púrpura.



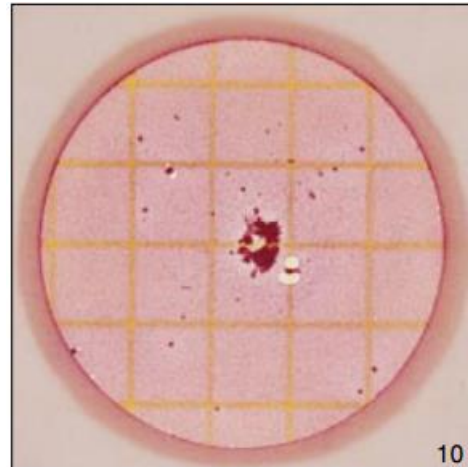
Una alta concentración de *E. coli* puede causar que el área de crecimiento se haga azul púrpura.



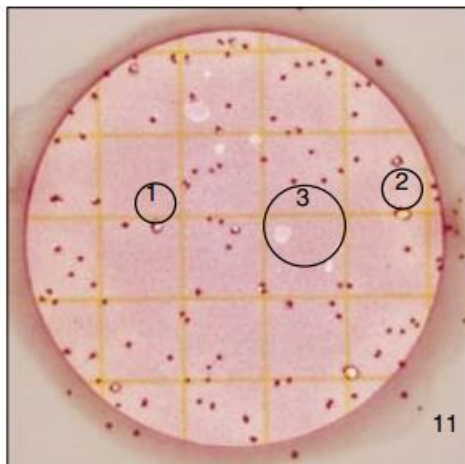
Cuando existen cifras altas de coliformes (10^8), algunos tipos de *E. coli* presuntiva pueden producir menos gas y las colonias azules pueden ser menos definitivas. Cuento todas las colonias azules sin gas y/o zonas azules como *E. coli*. Si es necesaria la confirmación, aíse las colonias azules con gas para su posterior identificación.



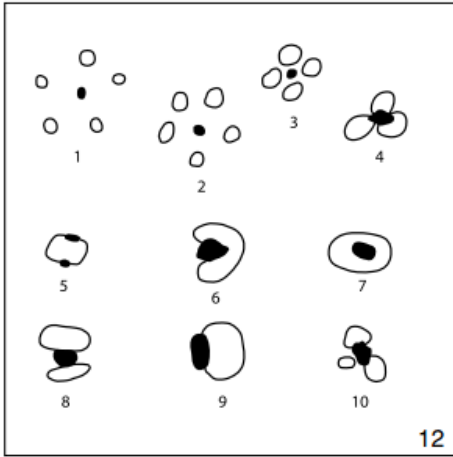
Cuando un número alto de organismos no-coliformes, como las *Pseudomonas*, estén presentes en las Placas Petrifilm EC, el gel puede volverse amarillo.



Las partículas de alimento tienen forma irregular y no tienen burbujas de gas. UFC de coliformes totales 3.

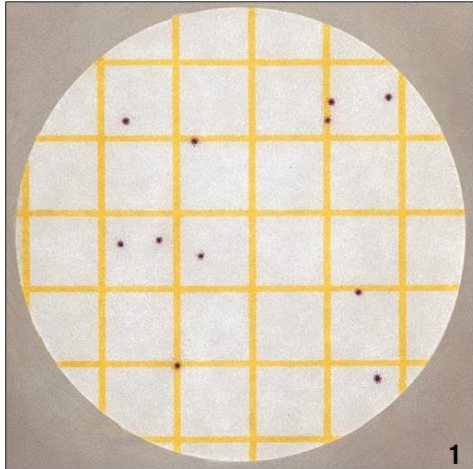


Los patrones de burbujas pueden variar. El gas puede romper la colonia y así, esta última 'delinea' a la burbuja. Vea los círculos 1 y 2. Las burbujas pueden aparecer como resultado de una inoculación impropia o de aire atrapado dentro de la muestra. Tienen forma irregular y no se asocian con una colonia. Vea el círculo 3. UFC de coliformes totales 78.

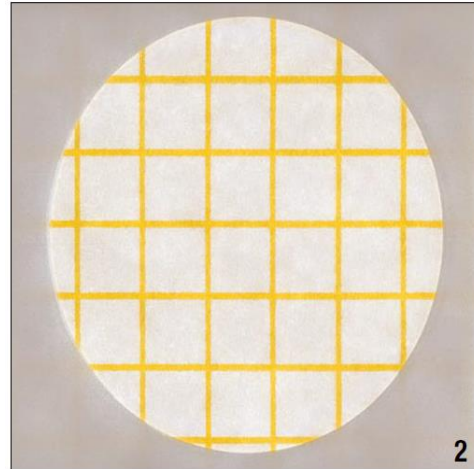


Los ejemplos 1 a 10 muestran varios patrones de burbujas asociados con colonias que producen gas. Todas deben ser enumeradas.

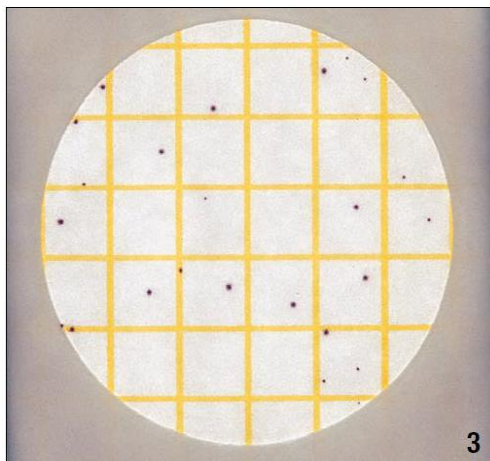
A4. Interpretación de resultados para el recuento de *Staphylococcus aureus*



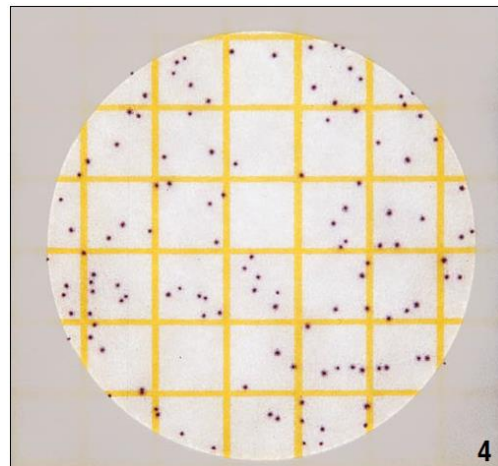
Considere todas las colonias rojo-violeta como *S. aureus*. Cuando sólo se encuentren presentes colonias rojo-violeta, la prueba se habrá completado.



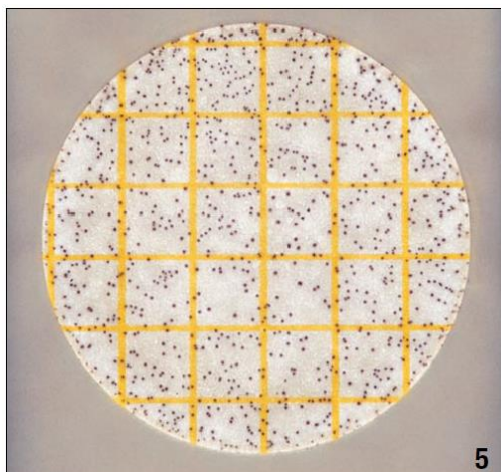
Esta placa petrifilm no tuvo colonias después de 24 horas de incubación.



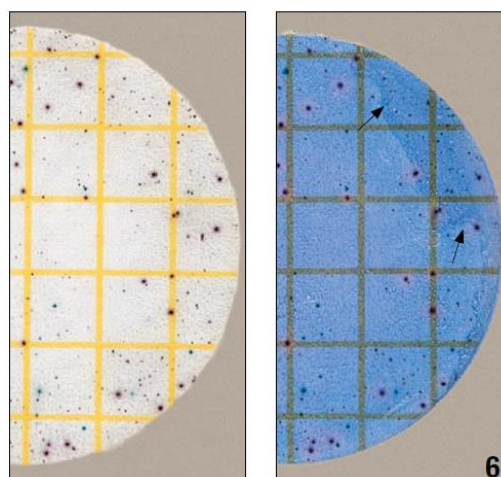
Las colonias de *S. aureus* pueden variar en tamaño, independientemente del tamaño, contar todas las colonias rojo-violeta.



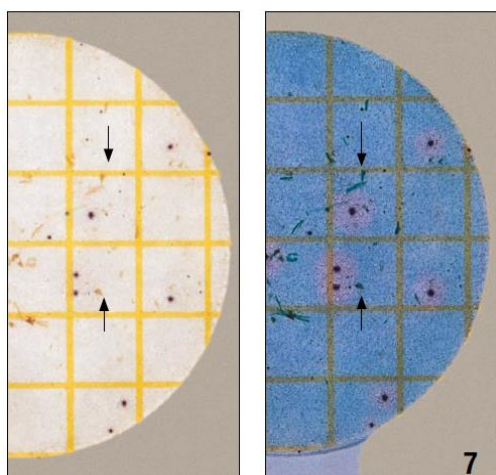
El límite de recuento recomendado de una placa petrifilm Staph Express es de 150 colonias. La placa de la figura 4 se está acercando al límite.



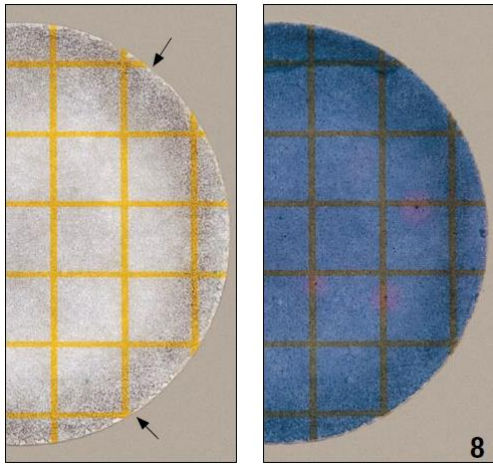
Cuando el número de colonias de *S. aureus* excede de 150, las colonias se tornan Muy Numerosas Para Contar (MNPC). Haga un estimado del recuento o diluya aún más su muestra. Para hacer la estimación, cuente las colonias en un cuadro representativo y multiplique ese número por 30.



Cuente las zonas rosadas como *S. aureus*, independientemente del tamaño de la zona. Las flechas de la figura 6 muestran un desprendimiento del gel. Esto no afecta el desempeño de la Placa junto con el Disco.

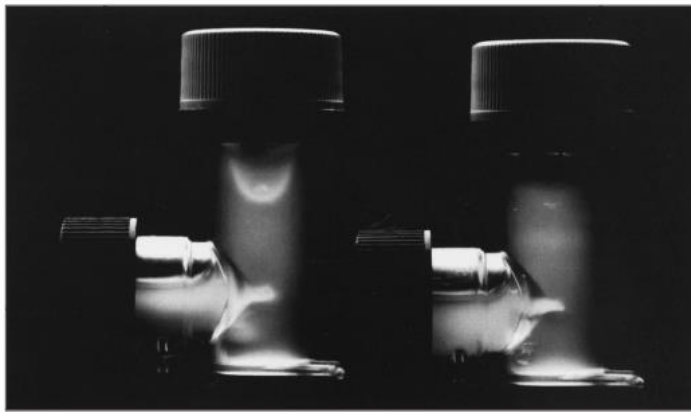


En la figura 7 se ven partículas de alimentos con forma irregular. Es más fácil contar las colonias de *S. aureus* una vez que se ha insertado el Disco, ya que las zonas rosadas se distinguen con mayor claridad que el alimento.



Es difícil ver las colonias individuales debido al alimento y/o al gran número de bacterias del fondo, como lo muestra la decoloración de la placa de la figura 8. Inserte el Disco y cuente las zonas rosadas como *S. aureus*. En este caso se pueden observar 3 UFC.

A5. Interpretación de resultados para *Salmonella*



1-2 Test POSITIVO indicado por la presencia de una Imunobanda en forma de U.

1-2 Test NEGATIVO indicado por la ausencia de Imunobanda.



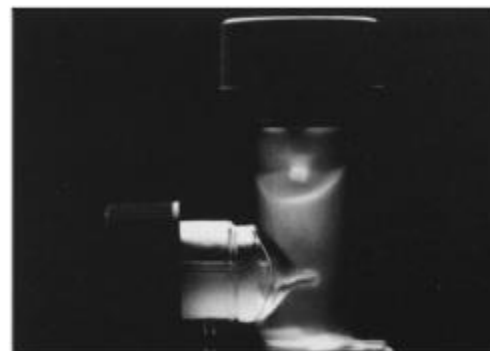
Ejemplo de Imunobanda asimétrica del lado derecho.



Ejemplo de Imunobanda en forma de menisco.



Ejemplo de Imunobanda asimétrica.



Ejemplo de Imunobanda asimétrica del lado izquierdo.