


Cambios en el recuento de cuatro grupos bacterianos durante la maduración del Queso de Prensa (Costeño) de Cuajinicuilapa, México



José Alberto Mendoza-Cuevas ^a

Armando Santos-Moreno ^a

Beatriz Teresa Rosas-Barbosa ^b

Ma. Carmen Ybarra-Moncada ^a

Emmanuel Flores-Girón ^a

Diana Guerra-Ramírez ^{c*}

^a Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Carretera México-Texcoco km 38.5, Texcoco, Estado de México. México.

^b Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Zapopan, Jal. México.

^c Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Preparatoria Agrícola. Texcoco, Estado de México. México.

* Autor de correspondencia: guerrard@correo.chapingo.mx

Resumen:

El Queso de Prensa, también llamado Costeño es elaborado artesanalmente a partir de leche cruda de vaca en la región de la Costa Chica del estado de Guerrero. Con el fin de conocer las características de los quesos artesanales mexicanos, el objetivo de esta investigación fue analizar los cambios en el recuento de bacterias mesófilas aerobias (BMA), microorganismos coliformes totales (CT), bacterias ácido lácticas (BAL) y estafilococos coagulasa positivos (ECP), durante la maduración (5, 30, 60 y 90 días) de quesos de prensa, elaborados por cuatro diferentes queserías (A, B, C y D) de Cuajinicuilapa, Guerrero, México. Una porción (25 g)

de cada muestra de queso se homogeneizó con diluyente de peptona (225 ml) y se prepararon diluciones desde 10^{-1} a 10^{-6} con las que se sembraron placas 3M™ Petrifilm™. Después de incubar a diferentes condiciones, según el tipo de microorganismo, se hicieron recuentos de BMA, CT, BAL y ECP. Los resultados mostraron que conforme avanzó el tiempo de maduración del Queso de Prensa, la carga microbiana disminuyó: BMA de 4 a 2, CT de 6 a 3, BAL de 6 a 2 y ECP de 5 a 2 \log_{10} UFC g^{-1} . Los cambios en los recuentos de los grupos bacterianos estudiados, pueden ser atribuidos a las transiciones fisicoquímicas y microbiológicas propias de la maduración del queso y a las características de la microbiota presente en cada una de las queserías. Los resultados de esta investigación aportan elementos para la caracterización microbiana de los quesos artesanales mexicanos.

Palabras clave: Bacterias ácido lácticas, Bacterias mesófilas aerobias, Estafilococos coagulasa positivos, Leche cruda, Microbiota, Microorganismos coliformes totales, Quesos artesanales.

Recibido: 14/12/2021

Aceptado: 02/09/2022

Introducción

Alrededor del mundo, el queso además de ser una rica fuente de nutrientes es un alimento esencial utilizado en la gastronomía local de diferentes sociedades^(1,2). Actualmente se conocen alrededor de 1,833 variedades de quesos ubicados en 74 países⁽³⁾; dicha diversidad está determinada por los procesos tecnológicos empleados para su elaboración, tales como origen de la leche, relación grasa-proteína, tipos de cultivos y de agentes coagulantes; la forma, el tamaño del queso y las condiciones de maduración^(4,5,6).

La maduración del queso consiste en su almacenado, bajo ciertas condiciones de temperatura y humedad, durante un periodo de tiempo que puede oscilar de 3 a 7 días, hasta 2 años^(5,7). El proceso de maduración, además de impartir características sensoriales, es un método de conservación^(5,6,8). En esta etapa se presentan cambios bióticos y abióticos que repercuten de forma directa sobre la microbiota presente en el queso^(5,7,9).

En su mayoría, los quesos artesanales son elaborados a partir de leche cruda, con fermentación espontánea, procesos de fabricación no tecnificados y tiempos de maduración variados^(5,7,10).

En México existen alrededor de 40 quesos artesanales⁽⁷⁾, entre ellos se encuentran quesos madurados como el Cotija de la Sierra JalMich, el queso Añejo de Zacazonapan, el queso Maduro de Veracruz, el queso Chihuahua y el queso artesanal de la región de Ojos Negros de Baja California, de los cuales se han publicado algunos aspectos de su microbiología⁽¹¹⁻¹⁴⁾.

El queso de prensa (QP), se elabora con leche de vaca, sin pasteurizar, cuajo líquido comercial y sal; pasa por una etapa de prensado cuya duración varía a criterio del fabricante de 1 a 3 días, posteriormente se deja madurar por periodos de hasta tres meses. El queso así obtenido tiene variaciones de color entre blanco y amarillo⁽¹⁵⁾.

Generalmente tiene forma rectangular o cilíndrica, su consistencia es firme, y su peso es de 1 a 14 kg por pieza (Figura 1)⁽¹⁵⁾.

Figura 1: Queso de Prensa en formas rectangular y cilíndrica



El QP es elaborado desde hace más de 100 años en el suroeste de México, principalmente en la región de la Costa Chica del estado de Guerrero en los municipios de Cuajinicuilapa y Ometepec, así como en el municipio de Pinotepa Nacional, en la costa del estado de Oaxaca⁽¹⁵⁾. De acuerdo con el INEGI⁽¹⁶⁾, el clima de la región Costa Chica es cálido subhúmedo y sus temperaturas oscilan de 22 a 28 °C.

Actualmente se realizan estudios para identificar las características de los quesos artesanales de México^(7,15), el objetivo de esta investigación fue analizar los cambios que ocurren en el recuento de bacterias mesófilas aerobias, microorganismos coliformes totales, bacterias ácido lácticas y estafilococos coagulasa positivos, durante la maduración (5, 30, 60 y 90 días) de los quesos de prensa elaborados por cuatro queserías (A, B, C y D) de Cuajinicuilapa, Guerrero, México.

Material y métodos

Muestras de queso

Se analizaron muestras de QP producido de forma artesanal en el municipio de Cuajinicuilapa, Guerrero, México (16°28'18' N, 99°24'55' O), en julio de 2018. Con base a un muestreo dirigido, se seleccionaron como unidades de muestreo, cuatro queserías que en adelante se nombrarán A, B, C y D. En cada quesería se adquirieron cuatro quesos recién elaborados, de 1 kg de peso. Las muestras se trasladaron al municipio de San Marcos, Guerrero (16°47'46' N, 99°23'05' O) a un espacio con características similares a aquellas de las queserías de Cuajinicuilapa. En este lugar, las muestras de los quesos (cuatro de cada quesería) se dejaron madurar durante 5, 30, 60 y 90 días. Concluido el tiempo de maduración, cada lote se trasladó, en bolsas de polietileno, dentro de hieleras con refrigerante, al laboratorio. Las muestras se conservaron en refrigeración a 4 °C hasta su análisis. El tiempo máximo de maduración fue 90 días, debido a que después de ese período los sabores se intensifican y los consumidores locales lo evitan porque prefieren sabores más suaves.

Preparación de la muestra

Cada una de las muestras de queso (25 g) se mezcló con 225 ml de diluyente de peptona, la mezcla se homogeneizó durante 2 min (Vortex VWR symphony D S41 ®, VWR International) y se hicieron diluciones desde 10^{-1} hasta 10^{-6} mediante la transferencia de 1 ml de la muestra a frascos viales que contenían 9 ml de diluyente de peptona⁽¹⁷⁾.

Recuento de microorganismos

Se utilizaron los siguientes medios de cultivo (3M Placas Petrifilm™): recuento de aerobios (AC No. de catálogo 6400), recuento de coliformes (CT No. de catálogo 6410), bacterias ácido lácticas (No. de catálogo 6461) y staph express para estafilococos coagulasa positivos (No. de catálogo 6493); en cada una de las placas se colocó 1 ml de la dilución correspondiente⁽¹⁸⁻²¹⁾.

Todos los recuentos se hicieron por duplicado. Para BMA se sembraron las diluciones 10^{-3} y 10^{-4} y el medio se incubó a 35 ± 2 °C durante 48 ± 3 h⁽¹⁸⁾. Los microorganismos CT fueron investigados a partir de las diluciones 10^{-2} y 10^{-3} , incubándose a 35 ± 1 °C durante 24 ± 2 h⁽¹⁹⁾. La determinación de BAL se hizo inoculando los medios con diluciones desde 10^{-3} a 10^{-6} e incubando a 35 ± 2 °C durante 48 ± 3 h⁽²⁰⁾. El estudio de ECP se llevó a cabo a partir de las diluciones 10^{-2} a 10^{-4} y una incubación de 37 ± 1 °C durante 24 ± 3 h⁽²¹⁾.

Una vez completado el tiempo de incubación se revisó el crecimiento y se contaron las placas que contenían entre 15 y 300 colonias, se obtuvo la media de las dos repeticiones y este promedio se multiplicó por el inverso de la dilución con que fue inoculada la placa⁽²²⁾. El resultado del recuento se reportó como \log_{10} del número de unidades formadoras de colonias por gramo (\log_{10} UFC g^{-1})⁽²³⁾.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se fundamentó en un diseño con medias repetidas y asignación de tratamientos completamente al azar, ensayados a través del tiempo, cuyo modelo probabilístico corresponde a:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \gamma_k + (\alpha\gamma)_{ik} + e_{ijk}^{(24)}$$

Donde:

$\mu + \alpha_i + \gamma_k + (\alpha\gamma)_{ik}$ Es la media del tratamiento i en el momento k , que contiene los efectos del tratamiento, tiempo, y la interacción tiempo \times tratamiento;

e_{ijk} es el error aleatorio asociado a la medición en el momento k sobre j asignado al tratamiento i .

El efecto de los tratamientos (queserías A, B, C y D) se evaluó a través del tiempo de maduración (5, 30, 60 y 90 días) con cuatro repeticiones, generando 64 unidades experimentales, cada una constituida de 25 g de queso.

Las variables respuesta evaluadas fueron: cuenta total de bacterias mesófilas aeróbicas (BMA), coliformes totales (CT), bacterias ácido lácticas (BAL) y estafilococos coagulasa positivos (ECP). Los datos se analizaron mediante un modelo mixto^(24,25) cuyo efecto aleatorio corresponde al tiempo de maduración y el efecto fijo a las queserías. Para identificar el efecto de los tratamientos se aplicó el método de Tukey-Kramer ($P < 0.05$). Los análisis se llevaron a cabo en el paquete SAS versión 9.1 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, EUA).

Resultados y discusión

Durante el tiempo de maduración, se observó una disminución en el recuento de los diferentes microorganismos. Los recuentos más altos de todos los grupos microbianos se alcanzaron a los cinco días de maduración mientras que los valores mínimos se registraron a los 90 días (Cuadro 1).

Cuadro 1: Recuento de grupos bacterianos, \log_{10} UFC g^{-1} , durante la maduración del Queso de Prensa elaborado en cuatro queserías (A, B, C y D) de Cuajinicuilapa, Guerrero, México

Grupo bacteriano	Tiempo (días)	Queserías			
		A	B	C	D
Bacterias mesófilas aerobias (\log_{10} UFC g^{-1})	5	6.3143 \pm 0.2973 Cc	4.6802 \pm 0.2973 Ba	5.8948 \pm 0.2973 Cb	5.9077 \pm 0.2973 Cb
	30	5.1156 \pm 0.2973 Bb	4.3884 \pm 0.2973 Ba	4.4981 \pm 0.2973 Ba	5.1043 \pm 0.2973 Bb
	60	4.0021 \pm 0.2973 Ab	3.1505 \pm 0.2973 Aa	4.4047 \pm 0.2973 Bbc	4.6703 \pm 0.2973 ABc
	90	4.3178 \pm 0.2973 Ab	2.5638 \pm 0.2973 Aa	2.4005 \pm 0.2973 Aa	4.3597 \pm 0.2973 Ab
Coliformes totales (\log_{10} UFC g^{-1})	5	4.1093 \pm 0.1002 Cb	2.1505 \pm 0.1002 Aa	2.4203 \pm 0.1002 Aa	4.7211 \pm 0.1002 Db
	30	3.7726 \pm 0.0541 Cc	2.8838 \pm 0.0541 Ba	3.7916 \pm 0.0541 Cc	3.0878 \pm 0.0541 Cb
	60	2.3138 \pm 0.2854 Bb	2.3763 \pm 0.2854 ABb	2.2698 \pm 0.2854 Ab	1.5753 \pm 0.2854 Ba
	90	<1 \pm 0.0440 Aa	2.3451 \pm 0.0440 Ab	2.0753 \pm 0.0440 Ab	<1 \pm 0.0440 Aa
Bacterias ácido lácticas (\log_{10} UFC g^{-1})	5	6.5457 \pm 0.0651 Dc	5.9454 \pm 0.0651 Cb	5.5084 \pm 0.0651 Ba	6.7366 \pm 0.0651 Cc
	30	5.8336 \pm 0.0651 Cb	5.8231 \pm 0.0651 Cb	5.1193 \pm 0.0651 Ba	6.1241 \pm 0.0651 Cb
	60	3.5524 \pm 0.0651 Ba	3.7918 \pm 0.0651 Ba	3.1945 \pm 0.0651 Aa	5.0914 \pm 0.0651 Bb
	90	<1 \pm 0.0651 Aa	<1 \pm 0.0651 Aa	3.2258 \pm 0.0651 Ab	4.2394 \pm 0.0651 Ac
Estafilococos coagulasa positivos (\log_{10} UFC g^{-1})	5	5.6562 \pm 0.0540 Cb	3.7456 \pm 0.0540 Ba	5.6918 \pm 0.0540 Cb	5.8746 \pm 0.0540 Cb
	30	3.6276 \pm 0.3811 Bb	2.2500 \pm 0.3811 Aa	3.7271 \pm 0.3811 Bb	3.8389 \pm 0.3811 Bb
	60	2.6945 \pm 0.0438 Aa	2.7143 \pm 0.0438 Aa	2.7311 \pm 0.0438 Aa	2.8063 \pm 0.0438 Aa
	90	2.5951 \pm 0.0524 Aa	2.4203 \pm 0.0524 Aa	2.6945 \pm 0.0524 Aa	2.5951 \pm 0.0524 Aa

Medias con letra minúscula en filas y medias con letra mayúscula en columna, seguidas de diferente letra, indican significancia estadística (Tukey, $P < 0.05$).

Bacterias mesófilas aerobias

En los conteos de BMA, se presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las queserías (Cuadro 1). El decremento gradual de BMA del día 5 al 90 fue próximo a $2 \log_{10} \text{ UFC g}^{-1}$, para las queserías A, B y D; mientras que para la quesería C fue de $3.49 \log_{10} \text{ UFC g}^{-1}$.

La mayoría de los valores de BMA encontrados en el QP están dentro del rango de 4 a 9 logaritmos UFC g^{-1} , reportado para quesos elaborados a partir de leche cruda y madurados por 60 o más días⁽²⁶⁾. Dado que el proceso de maduración de los quesos conlleva la multiplicación de los microorganismos presentes, lo esperado en este tipo de productos son concentraciones de BMA de 4 a 9 logaritmos (10^4 a 10^9 UFC g^{-1}), sin que esto implique un deterioro del alimento o sugiera condiciones no sanitarias ocurridas durante su elaboración o almacenamiento^(26,27,28). En la región de Ojos Negros en el estado de Baja California a partir de un estudio que incluyó quesos madurados de 22 queserías, elaborados con leche cruda se reporta que las BMA se encontraron en un rango de 4.6 a $7.2 \log_{10} \text{ UFC g}^{-1}$ ⁽¹⁴⁾.

En estudios sobre la maduración del queso Cotija artesanal, salado y madurado a temperaturas de $14 \text{ }^\circ\text{C}$ a $32 \text{ }^\circ\text{C}$, Chombo⁽¹¹⁾ reporta las siguientes variaciones en las BMA: 8.3, 7.0, 3.5 y $4.7 \log_{10} \text{ UFC g}^{-1}$, en los días 8, 30, 60 y 90, en tanto que Magallón⁽²⁹⁾ encontró 5.3 y $1.8 \log_{10}$, en los días 30 y 90, respectivamente. Los recuentos encontrados en el QP a los 30 y 90 días son muy próximos a los reportados para el queso Cotija que se madura en rangos de temperatura similares a las del QP.

El decremento de las BMA fue común en los quesos de las cuatro queserías (Cuadro 1), lo cual refleja cierta homogeneidad en los procesos de fabricación y las condiciones de maduración de los quesos. La diferencia estadística ($P < 0.05$) entre queserías sugiere variaciones cuantitativas o cualitativas en la microbiota del queso generadas por la leche y los microambientes propios de cada quesería. Cabe destacar que, entre el día 5 y el 60, se observa que las BMA de los quesos de la quesería A descienden $2.31 \log_{10} \text{ UFC g}^{-1}$, sin embargo, entre el día 60 y 90 permanecen sin cambios; en tanto que las BMA de los quesos de la quesería C, del día 60 al 90 presentan una reducción de $2 \log_{10} \text{ UFC g}^{-1}$.

El desarrollo de BMA en los quesos de la quesería A muestra capacidades de adaptación y sobrevivencia de las bacterias, en tanto que el decremento de BMA en los quesos de la quesería C exhibe una pérdida de viabilidad con la liberación de enzimas que contribuyen a la generación de sabores y texturas⁽⁵⁾. Ello sugiere que es conveniente investigar la relación de las características organolépticas del queso de prensa, entre queserías y entre diferentes concentraciones de BMA a través del tiempo de maduración, así como la relación de las BMA con la vida útil del queso a temperatura ambiente. Por otro lado, los estudios de BMA son útiles como etapa inicial en la búsqueda de cultivos iniciadores a partir de quesos

artesanales. Las variaciones en la concentración de sal y la humedad pudieron influir en la sobrevivencia de las BMA. Los resultados sugieren que, en los quesos de las queserías A y D existen bacterias adaptadas para sobrevivencia a largo plazo. En tanto que en los de las queserías B y C pueden estar presentes bacterias de sobrevivencia corta, y por tanto pueden contribuir más rápidamente a la producción de sabores, olores y texturas (agradables o desagradables)⁽⁵⁾. Otra posibilidad es que, la reducción de BMA en los quesos de las queserías B y C se deba a la presencia de sustancias con acción antimicrobiana, originadas por el metabolismo de microorganismos, o por los cambios bioquímicos que ocurren en el queso, derivados de la proteólisis de la caseína para dar origen a péptidos con actividad antimicrobiana^(5,30).

Bacterias coliformes totales

Los recuentos de coliformes totales en los quesos mostraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre queserías durante el periodo de maduración (Cuadro 1). Los recuentos mayores se encontraron en el día 5 ($4.72 \log_{10}$ UFC g^{-1}) y los menores en el día 90 ($< 1 \log_{10}$). El queso al ser una muestra sólida, obstaculiza un recuento directo, por lo que es necesario hacer una dilución inicial que conduce a que el nivel mínimo de detección sea $10 \text{ UFC } g^{-1}$, por ello la ausencia de crecimiento se reportó como $< 1 \log_{10}$.

Se observaron dos dinámicas diferentes, los quesos de las queserías A y D presentaron las mayores cargas iniciales de CT, que a los 30 días de maduración disminuyeron hasta alcanzar 3.72 a $3.10 \log_{10}$ UFC g^{-1} , respectivamente (Cuadro 1). En los quesos de las queserías B y C, los CT mostraron niveles iniciales de 2 logaritmos, que se elevaron durante el primer mes y se mantuvieron con ligeras variaciones para coincidir en el día 90 con valores muy próximos entre ellas.

La dinámica de los CT en los quesos de las queserías A y D han sido reportadas en quesos maduros y está caracterizada por una disminución progresiva de los coliformes conforme avanza la maduración⁽³¹⁾ lo cual se atribuye a la disminución del pH debido a la fermentación de la lactosa⁽³²⁾. En quesos madurados como el Cheddar, los coliformes mueren a una tasa de $0.3 \log_{10}$ UFC g^{-1} por semana y en el Gouda a $0.7 \log_{10}$ por semana⁽³³⁾. Por lo anterior, la dinámica observada en los quesos de las queserías B y C es atípica, porque entre los días 5 al 30, ocurre un aumento de 0.73 y $1.37 \log_{10}$, respectivamente, seguido en los días 60 a 90 por disminuciones muy pequeñas, 0.03 y $0.19 \log_{10}$, respectivamente (Cuadro 1). Esto sugiere que hay aspectos comunes entre las dos queserías que favorecen la selección de bacterias que persisten durante la maduración, tales como la calidad del agua y de la leche, el personal o variantes en los procesos de elaboración o limpieza.

Los niveles aceptados de coliformes totales en quesos madurados son menores a 100 UFC/g ($< 2 \log_{10} \text{ UFC g}^{-1}$)⁽³⁴⁾, valores que fueron alcanzados entre los días 60 y 90 (Cuadro 1) en las queserías A y D. De acuerdo con Metz⁽³²⁾, los quesos elaborados con leche cruda de buena calidad, bajo condiciones sanitarias higiénicas, aplicando buenas prácticas de manufactura y madurados adecuadamente, tendrán bajos niveles de bacterias coliformes totales, coliformes fecales, enterococos, *Enterobacteriaceae* y *Escherichia coli*.

La actividad de los organismos coliformes en los quesos puede afectar negativamente sus características sensoriales^(28,35). Sin embargo, se ha observado que ciertos géneros de coliformes contribuyen positivamente en la textura y características sensoriales del producto; además de que algunas cepas de *Hafnia* contribuyen a la acumulación de aromas, y generación de sabores^(32,35,36). La persistencia de coliformes sugiere la posibilidad de la participación de dichos microorganismos en las características organolépticas de los quesos de las queserías B y C aspecto que no ha sido abordado en los estudios de quesos mexicanos.

Bacterias ácido lácticas

Durante el periodo de maduración, las cuentas de BAL de los quesos de las queserías estudiadas mostraron diferencias significativas ($P < 0.05$) (Cuadro 1). En este grupo microbiano se registraron los mayores recuentos de todo el estudio. En el día 5 los recuentos oscilaron entre 5.50 y 6.73 $\log_{10} \text{ UFC g}^{-1}$, estos valores fueron disminuyendo a partir del día 30. Del día 5 al 60 las reducciones fueron de 2.99, 2.15, 2.31 y 1.77 \log_{10} , para los quesos de las queserías A, B, C y D, respectivamente.

Durante la maduración de los quesos artesanales españoles Casar de Cáceres, Afuega'l Pitu y Cabrales se reportaron descensos en el recuento de lactococos de 2 a 3 $\log_{10} \text{ UFC g}^{-1}$ entre el día 0 y el 60, en tanto que en el queso "La Serena" solo hubo una reducción menor a un logaritmo, hecho que se atribuye a que este queso tuvo un bajo contenido de sal durante las primeras semanas de maduración⁽⁵⁾. Lo anterior sugiere que las reducciones observadas en el QP del día 5 al 60 están acordes a lo que ocurre con las bacterias ácido lácticas homofermentativas en quesos elaborados artesanalmente con microbiota autóctona⁽⁵⁾. Las concentraciones de BAL encontradas en el QP del día 60 al 90 son menores a las reportadas en quesos madurados de Europa, que presentan valores de 7 a 9 $\log_{10} \text{ UFC g}^{-1}$ ^(5,37,38).

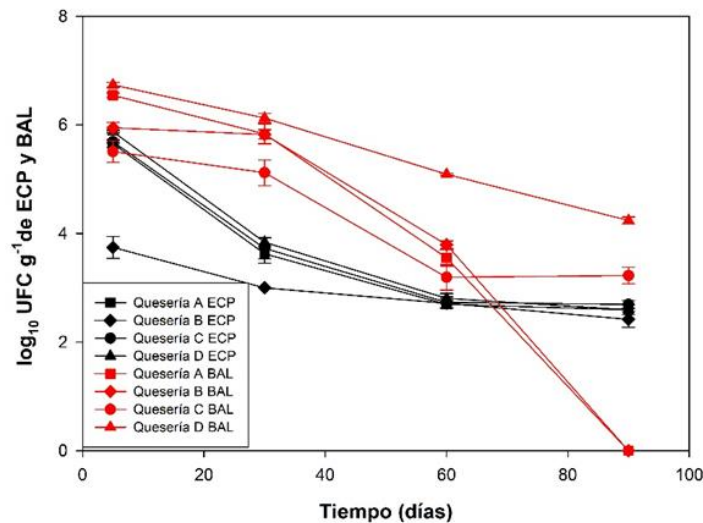
Con diferencias en el tipo de ganado y áreas geográficas, el queso Cotija y el QP comparten temperaturas, procesos de fabricación y maduración. En el queso Cotija se han encontrado incrementos y decrementos pequeños en recuentos de BAL; un estudio reporta 2.6 $\log_{10} \text{ UFC g}^{-1}$ en el día 30 con aumento a 2.9 \log_{10} en el día 90⁽²⁹⁾, otro estudio señala 5.9 \log_{10} en el día 60, que disminuye a 5.0 \log_{10} en el día 90⁽¹¹⁾. Los datos anteriores sugieren que, tanto en el QP como en el Cotija, los recuentos de BAL tienden a ser menores que en otros quesos

madurados; esto podría tener una explicación por las temperaturas en que son madurados lo cual favorece una mayor pérdida de humedad que genera valores de actividad de agua y de relación humedad/sal que son inhibitorios para las BAL⁽⁵⁾.

Estafilococos coagulasa positivos

Los recuentos ECP de los quesos de las queserías estudiadas exhibieron diferencias significativas ($P<0.05$) durante el periodo de maduración (Cuadro 1). A partir del día 5 y hasta el 60, en los quesos de las queserías A, C y D se observó un decremento continuo de los ECP, seguido de una estabilización del día 60 al 90. En la quesería B hubo un decremento del día 5 al 30 seguido de un incremento del día 30 al 60 y una estabilización del día 60 al 90 (Figura 2). Las tasas de muerte de ECP (promedio de decremento \log_{10} UFC g^{-1} dividido entre semana de maduración)⁽³⁹⁾ en los quesos de las queserías A y C fueron de 0.30 \log_{10} y de 0.23 y 0.31 \log_{10} en las queserías B y D, respectivamente.

Figura 2: Antagonismo y cambio en la concentración de bacterias ácido lácticas (BAL) respecto a estafilococos coagulasa positivos (ECP)



Para quesos elaborados con leche cruda, los límites aceptados de estafilococos coagulasa positivos son de 10^4 a 10^5 UFC g^{-1} , que equivale a 4-5 \log_{10} UFC g^{-1} ⁽⁴⁰⁾, límites que fueron excedidos en el día 5 en las queserías A, C y D pero que se retornó a ellos en el día 30 y permanecieron hasta el día 90 (Cuadro 1). Los recuentos de ECP mayores a 4 \log_{10} muestran la necesidad de aplicar medidas correctoras en la higiene del proceso de recolección de la leche, de fabricación del queso y la selección de materias primas⁽⁴⁰⁾. Valores de 10^5 UFC g^{-1} o mayores conducen a investigar la presencia de toxina estafilocócica en los quesos⁽⁴⁰⁾, pues al ser termoestable puede persistir aún cuando los estafilococos hayan muerto. Generalmente

se necesitan concentraciones de 10^6 UFC g^{-1} para producir toxina suficiente (un nanogramo por gramo de queso) para causar un brote de enfermedad⁽⁵⁾.

Reducciones de *Staphylococcus aureus* de 1 a 3 logaritmos han sido reportadas en diferentes quesos^(41,42,43), cifras que coinciden con las reducciones de ECP durante la maduración del QP.

La tasa de muerte de *S. aureus* en Queso Manchego elaborado con leche cruda del día 1 al 60 es de $0.404 \log_{10}$ UFC g^{-1} ⁽³⁹⁾, las tasas de muerte de ECP en las queserías A, C y D (0.49, 0.50 y 0.52) estuvieron próximas a este valor lo que sugiere que el decremento fue el esperado para este tipo de quesos (quesos de pasta prensa madurados). No se identificaron factores que expliquen la menor tasa de muerte observada en la quesería B (0.36).

El desarrollo y supervivencia de *S. aureus* son afectados por factores tales como: cambios fisicoquímicos ocurridos durante el proceso de la maduración, metabolitos secundarios generados por BAL, así como a la composición del producto, el periodo de almacenamiento y la temperatura^(44,45). *Staphylococcus aureus* es inhibido por BAL mediante la competición de nutrientes, producción de ácido láctico, peróxido de hidrógeno y producción de sustancias antimicrobianas⁽⁴⁶⁾, lo anterior puede explicar la disminución de ECP en los primeros 30 días de maduración, período en que los niveles de BAL fueron mayores (Figura 2). Entre el día 30 y 60 las condiciones de almacenamiento a temperatura ambiente pudieron aumentar la pérdida de humedad lo que cambia relación humedad/sal siendo inhibitoria para BAL⁽⁵⁾, esto favorece a *S. aureus*, lo que pudiera explicar su ligero aumento en la quesería B y la suspensión de su descenso en las queserías A, C y D.

Conclusiones e implicaciones

El queso de prensa es un queso elaborado artesanalmente madurado en clima cálido subhúmedo con participación de bacterias ácido lácticas autóctonas, cuyas concentraciones son menores a las reportadas para quesos europeos, pero semejantes a aquellas reportadas en el queso Cotija. Las diferencias estadísticas de los recuentos microbianos a diferentes tiempos muestran los cambios que van ocurriendo conforme avanza la maduración del queso. En tanto que las diferencias estadísticas entre las queserías sugieren la existencia de microbiomas propios de cada quesería, los cuales pudieran ser capaces de generar variantes del QP entre los diferentes productores artesanales, aun cuando tengan procesos de producción similares. Los cambios en los recuentos de los grupos bacterianos estudiados pueden ser atribuidos a cambios fisicoquímicos y sucesiones en las poblaciones bacterianas propias de la maduración del queso y a las características de la microbiota presente en cada una de las queserías. Es conveniente explorar si la vida útil de este queso se prolonga más allá de los 90 días. El hallazgo de coliformes que persisten durante la maduración muestra la necesidad de

investigar si se trata de un caso excepcional, y las bacterias de este grupo contribuyen a las características agradables del queso o están relacionadas con su deterioro. Los datos de reducción y sobrevivencia de estafilococos coagulasa positivos generados en esta investigación pueden servir de referencia para iniciar y evaluar programas de mejora en este tipo de queserías. Si bien esta investigación comprendió cuatro queserías del principal municipio productor del QP, la información generada puede servir de referencia para la caracterización de este queso artesanal.

Agradecimientos y conflictos de intereses

Este trabajo de investigación fue posible gracias a la beca otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología para los estudios de Maestría del primer autor. También agradecemos los comentarios hechos al manuscrito por los Doctores Angélica Luis Juan Morales y Ricardo Alaniz de la O. Ninguno de los autores tiene conflicto de intereses con respecto a la presente publicación.

Literatura citada:

1. Cidón CD, Canut E. Quesos españoles, ases en la mesa, comodines en la cocina. 1a ed. Madrid, ESP: Everest; 2003.
2. Yescas C, Santacruz J. Quesos mexicanos. 1a ed. México, Distrito Federal: Larousse; 2013.
3. Cheese.com specialty cheeses. Alphabetical list, find over 1833 specialty cheeses from 74 countries in the world's greatest cheese resource. <https://www.cheese.com/alphabetical/>. Accessed Jan 26, 2021.
4. Kongo JM, Malcata FX. Cheese: Types of cheeses - soft. In: Caballero B, Toldrá F, Pinglas PM, editors. Encyclopedia of food and health. 1st ed. Oxford, GB: Academic Press; 2015:768–773.
5. Fox PF, Guinee TP, Cogan TM, McSweeney PLH. Fundamentals of cheese science. 2nd ed. New York, USA: Springer; 2017.
6. Santiago-López L, Aguilar-Toalá JE, Hernández-Mendoza A, Vallejo-Cordoba B, Liceaga AM, González-Córdova AF. Invited review: Bioactive compounds produced during cheese ripening and health effects associated with aged cheese consumption. *J Dairy Sci* 2018;101(5):3742–3757.
7. Villegas GA, Santos MA, Cervantes EF. Los quesos mexicanos tradicionales. 1a ed. Texcoco, MEX: Universidad Autónoma Chapingo; 2016.

8. Alejo-Martínez K, Ortiz-Hernández M, Recino-Metelin BR, González-Cortés N, Jiménez-Vera R. Tiempo de maduración y perfil microbiológico del queso de poro artesanal. *ReIbCi* 2015;2(5):15–24.
9. Sánchez-Valdés JJ, Colín-Navarro V, López-González F, Avilés-Nova F, Castelán-Ortega OA, Estrada-Flores JG. Diagnóstico de la calidad sanitaria en las queserías artesanales del municipio de Zacazonapan, Estado de México. *Salud Publ Mex* 2016;58(4):461–467.
10. Vasek O, Cardozo M, Fusco AJ. Producción artesanal de quesos. Sistema de transformación agroalimentario en la región correntina (Argentina). IV Congreso internacional de la red SIAL. Mar del Plata, provincia de Buenos Aires. 2006:1–32.
11. Chombo-Morales P, Kirchmayr M, Gschaedler A, Lugo-Cervantes E, Villanueva-Rodríguez S. Effects of controlling ripening conditions on the dynamics of the native microbial population of Mexican artisanal Cotija cheese assessed by PCR-DGGE. *LWT-Food Sci Technol* 2016;65:1153–1161.
12. Ramírez-Rivera EJ, Ramón-Canul LG, Torres-Hernández G, Herrera-Corredor JA, Juárez-Barrientos JM, Rodríguez-Miranda J, *et al.* Tipificación de quesos madurados de cabra producidos en la zona montañosa central del estado de Veracruz, México. *Agrociencia* 2018;52(1):15–34.
13. Sánchez-Gamboa C, Hicks-Pérez L, Gutiérrez-Méndez N, Heredia N, García S, Nevárez-Moorillón GV. Microbiological changes during ripening of Chihuahua cheese manufactured with raw milk and its seasonal variations. *Foods* 2018; 7(9):153. <https://www.mdpi.com/2304-8158/7/9/153>. Accessed Jan 30, 2021.
14. Silva-Paz LE, Medina-Basulto G. E., López-Valencia G, Montañó-Gómez MF, Villa-Angulo R, *et al.* Caracterización de la leche y queso artesanal de la región de Ojos Negros, Baja California, México. *Rev Mex Cienc Pecu* 2020;11(2):553-564. <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/5084>. Consultado 30 Ene, 2021.
15. Sandoval-Alarcón F. Caracterización y análisis de la productividad del queso de prensa de la Costa Chica de Guerrero y Oaxaca [tesis maestría]. Texcoco, Estado de México: Universidad Autónoma Chapingo; 2016.
16. INEGI. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Guerrero, Clima. Recuperado de: <http://www.cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/gro/territorio/clima.aspx?tema=me&e=12>. Consultado 02 Sep, 2020.

17. Romero-Castillo PA, Leyva-Ruelas G, Cruz-Castillo JG, Santos-Moreno A. Evaluación de la calidad sanitaria de quesos crema tropical mexicano de la región de Tonalá, Chiapas. *Rev Mex Ing Quím* 2009;8(1):111–119.
18. 3M México. Placas Petrifilm™ para el recuento de aerobios AC, guía de interpretación. Ciudad de México, México: 3M. 2017.
19. 3M México. Placas Petrifilm™ para el recuento coliformes, guía de interpretación. Ciudad de México, México: 3M. 2017.
20. 3M México. Placas para el recuento de bacterias ácido lácticas 3M® Petrifilm®, guía de interpretación. Ciudad de México, México: 3M. 2017.
21. 3M México. Placas Petrifilm™ Staph Express para recuento de *Staphylococcus aureus*, guía de interpretación. México DF, México: 3M. 2009.
22. Camacho A, Giles M, Ortegón A, Palao M, Serrano B, Velázquez O. Técnicas para el análisis microbiológico de alimentos, cuenta en placa de bacterias. 2a ed. México, DF, México: Facultad de Química.; 2009. http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TecnicBasicas-Cuenta-en-placa_6527.pdf. Consultado 2 Sep, 2020.
23. FAO, WHO. Statistical aspects of microbiological criteria related to foods, a risk managers guide. 1st ed. Rome, ITA: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2016.
24. Little RC, Milliken GA, Stroup WW, Wolfinger RD, Schabenberger O. SAS® for mixed models. 2nd ed. Cary, North Carolina, USA: SAS Institute Inc; 2006.
25. Stroup WW, Milliken GA, Claassen EA, Wolfinger RD. SAS® for mixed models: Introduction and basic applications. 3rd ed. Cary, North Carolina, USA: SAS Institute Inc; 2018.
26. Brooks JC, Martinez B, Stratton J, Bianchini A, Kroksrom R, Hutkins R. Survey of raw milk cheeses for microbiological quality and prevalence of foodborne pathogens. *Food Microbiol* 2012;31(2):154–158.
27. ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganismos de los alimentos 1. Técnicas de análisis microbiológico. 2da ed. Zaragoza, ESP: Acribia; 2000.
28. Fernández-Escartín E. Microbiología e inocuidad de los alimentos. 2da ed. Querétaro, MEX: Universidad Autónoma de Querétaro; 2008.

29. Flores-Magallón R, Oliva-Hernández AA, Narváez-Zapata AA. Characterization of microbial traits involved with the elaboration of the Cotija cheese. *Food Sci Biotechnol* 2011;20(4):997–1003.
30. López-Expósito I, Miralles B, Amigo L, Hernández-Ledesma B. Health effects of cheese components with a focus on bioactive peptides. In: Frias J, Martínez-Villaluenga C, Peñas E, editors. *Fermented foods in health and disease prevention*. 1st ed. London, UK: Academy Press; 2017:239–273.
31. Asperger H, Brandl E. The significance of coliforms as indicator organisms in various types of cheese. *Antonie van Leeuwenhoek* 1983;48:635–639.
32. Metz M, Sheehan J, Feng PCH. Use of indicator bacteria for monitoring sanitary quality of raw milk cheeses – A literature review. *Food Microbiol* 2020;85(2020): 103283. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0740002018311213?via%3Dihub>. Accessed Jan 30, 2021.
33. Fox PF, Guinee TP, Cogan TM, McSweeney PLH. *Fundamentals of cheeses science*. 1st ed. Gaithersburg, Maryland, USA: Aspen Publisher 2000.
34. NACMCF. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods. NACMCF-Report-Process-Control-061015 (1) response to questions posed by the Department of Defense regarding microbiological criteria as indicators of process control or insanitary conditions, Washington DC, USA: United States Department of Agriculture; 2015. https://www.fsis.usda.gov/sites/default/files/media_file/2020-07/NACMCF-Report-Process-Control-061015.pdf . Accessed Aug 07, 2021.
35. Martin NH, Trmčić A, Hsieh TH, Boor KJ, Wiedmann, M. The evolving role of coliforms as indicators of unhygienic processing conditions in dairy foods. *Front Microbiol* 2016;7:1549. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.01549/full>. Accessed Aug 07, 2021.
36. Trmčić A, Chauhan K, Kent DJ, Ralyea RD, Martin NH, Boor KJ, *et al.* Coliform detection in cheese is associated with specific cheese characteristics but no association was found with pathogen detection. *J Dairy Sci* 2016;99(8):6105–6120.
37. Khalid NM, Marth EH. Lactobacili – their enzymes and role in ripening and spoil age of cheese- A review. *J Dairy Sci* 1990;73(10):2669–2684.
38. Tavaría FK, Reis PJM, Malcata FX. Effect of dairy farm and milk refrigeration on microbiological and microstructural characteristics of matured Serra da Estrela cheese. *Int Dairy J* 2006;16(8):895–902.

39. Nuñez M, Bautista L, Medina M, Gaya P. *Staphylococcus aureus*, thermostable nuclease and staphylococcal enterotoxins in raw ewes' milk Manchego cheese. J Appl Bacteriol 1988;65(1):29–34.
40. Commission Regulation (EC) No. 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria of foodstuffs L338. Official Journal of the European Union 2005 L338: 1–26. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32005R2073> Accessed Sep 2, 2020.
41. Kirdar SS, Yurdakul O, Kalit S, Kalit M. Microbiological changes throughout ripening of Keş cheese. J Cent Eur Agric 2018;19(1):61–71.
42. Cardoso VM, Dias RS, Soares BM, Clementino LA, Araújo CP, Rosa CA. The influence of ripening period length and season on the microbiological parameters of a traditional Brazilian cheese. Braz J Microbiol 2013;44(3):743–749.
43. Çolaklar M, Taban BM, Aytaç SA, Barbaros H, Gürsoy A, Akçelik N. Application of bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS)- Producing probiotic strain of *Lactobacillus plantarum* in control of *Staphylococcus aureus* in White-Brined cheese production. J AgrSci 2019;25(2019):401–408.
44. Bellio A, Astegiano S, Traversa A, Bianchi DM, Gallina S, Vitale N, *et al.* Behaviour of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in sliced, vacuum-packaged raw milk cheese stored at two different temperatures and time periods. Int Dairy J 2016; 57:15–19.
45. Stecchini MA, Sarais I, de Bertoldi M. The influence of *Lactobacillus plantarum* culture inoculation on the fate *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhimurium* in Montasio cheese. Int J Food Microbiol 1991;14(2):99–109.
46. Haines WC, Harmon LG. Effect of selected lactic acid bacteria on growth of *Staphylococcus aureus* and production of enterotoxin. Appl Microbiol 1973;25(3):436–441.