

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

**IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS, HONGOS Y LEVADURAS EN EL QUESO
MADURADO TIPO CHIHUAHUA**

POR:

MARIA FERNANDA CARRASCO MATAMOROS

TESIS



CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, CA

NOVIEMBRE, 2024

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

**IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS, HONGOS Y LEVADURAS EN EL QUESO
MADURADO TIPO CHIHUAHUA**

POR:

MARIA FERNANDA CARRASCO MATAMOROS

DEBORA KAROLINA MEJIA MENDEZ, MSc.

Asesor principal

TESIS

**PRESENTADO A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO
REQUISITO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO EN
TECNOLOGÍA ALIMENTARIA**

CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, CA

NOVIEMBRE, 2024

DEDICATORIA

A **mi madre**, mi inspiración constante quien convirtió nuestro hogar en un espacio de aprendizaje y me alentó a explorar el mundo del conocimiento, gracias por ser mi primera maestra.

A **mi padre**, aunque no puedas leer estas palabras, quiero agradecerte desde lo más profundo de mi corazón por ser mi mayor motivación. Tu espíritu y amor me acompañaron en cada desafío y logro. Te extraño y te honro en cada triunfo.

A **mis hermanos**, mi mayor apoyo incondicional. Gracias por cada palabra de aliento y por ayudarme a alcanzar esta meta.

A **mí misma**, por atreverme a soñar y por nunca rendirme. Este logro es un testimonio de mi crecimiento personal y profesional.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, mi guía espiritual, por darme la fuerza para superar todos los desafíos y alcanzar esta meta.

A **Fredy Reyes**, mi apoyo incondicional y mi refugio seguro, gracias por sus valiosos consejos y por ayudarme a mantenerme enfocada a lo largo de estos años.

A la **MSc. Nairobi Sevilla**, gracias por ser una excelente docente y una amiga incondicional. Su amistad ha significado mucho para mí, y su apoyo durante este proceso ha sido invaluable. Gracias por todo lo que ha hecho por mí.

A **Cinthia Casco**, aunque la distancia nos separe nuestros corazones siguen latiendo juntos, gracias por ser mi alma gemela en estos años

A mis amigos **Maylin Ponce, Seleste Borjas, Maria Acuña, Martha Diaz, Merlín Cruz y Jorge Cáceres** por ser mi familia elegida quienes han sido mi compañía en los momentos difíciles y mi mayor alegría en los buenos.

A mis asesores **MSc. Debora Mejía, PhD. Mario González y MSc. Loren Macias**, quienes despertaron en mí el interés por el mundo microbiano. Gracias a sus enseñanzas y su guía, pude adentrarme en este apasionante campo y realizar esta investigación. Esta tesis es un pequeño homenaje a su dedicación y a su pasión por la ciencia.

A la **Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira**, por brindarme las herramientas necesarias para alcanzar mis metas. De igual manera a la **PhD. Liliana Serna y PhD. Omar Rodríguez** por su dedicación y paciencia al compartir sus conocimientos conmigo. Por su dedicación que ha enriquecido significativamente mi trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABLAS	iv
LISTA DE ANEXOS.....	v
I. RESUMEN.....	vi
II. INTRODUCCIÓN.....	1
III. OBJETIVOS.....	2
2.1. Objetivo General	2
2.2. Objetivos específicos.....	2
IV. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
4.1. Historia y características del queso Chihuahua: Origen del queso Chihuahua y propiedades generales.....	3
4.1.1. Quesos madurados.....	3
4.1.2. Queso chihuahua	3
4.1.3. Características fisicoquímicas	4
4.1.4. Proceso de manufactura	5
4.2. Condiciones de los procesos de maduración.....	5
4.2.1. Temperatura	6
4.2.2. Humedad	6
4.2.3. Tiempo	6
4.3. Microorganismos nativos como cultivos iniciadores.	6
4.4. Principales agentes microbiológicos presentes en el queso.	7
4.4.1. Microbiota primaria.....	8
4.4.1.1. Bacterias ácido lácticas (BAL).....	8
4.4.1.2. Cultivos iniciadores.....	8
4.4.2. Microbiota secundaria	9
4.4.2.1. Hongos.	9
4.4.2.2. Levaduras.	10
V. MATERIALES Y METODO.....	11
5.1. Ubicación	11
5.2. Materiales y equipo.	12
5.3. Metodología	12
5.3.2. Etapa 1: Proceso de elaboración del queso madurado chihuahua.	13

5.3.3. Etapa 2: Análisis Fisicoquímicos.	14
5.3.3.1. Acidez titulable.	14
5.3.3.2. pH.....	14
5.3.3.3. Humedad	15
5.3.3.4. Aw	15
5.3.3.5. Cenizas	16
5.3.4. Etapa 3: Análisis microbiológicos.....	16
5.3.4.1. Microorganismos indicadores de calidad.	17
5.3.4.2. Bacterias ácido-lácticas	17
5.3.4.3. Hongos y levaduras	17
5.4. Variables por evaluar	18
5.4.1. Variables dependientes.....	18
5.4.2. Variables independientes.....	18
VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	19
6.1. Analisis fisicoquímicos	19
6.2. Análisis Microbiológicos	21
VII. CONCLUSIONES.....	24
VIII. RECOMENDACIONES.....	25
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	26
X. ANEXOS	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Imagen de un típico queso Chihuahua artesanal (Ortiz Estrada, 2020)	4
Figura 2. Microbiota del queso madurado chihuahua.	10
Figura 3. Planta Procesadora de lácteos, UNAG, Olancho	11
Figura 4. Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira.....	11
Figura 5. Etapas de la investigación.	13

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos.	12
Tabla 2. Niveles y variables de respuesta de los tratamientos.....	13
Tabla 3. Formulación optimizada queso madurado chihuahua (Lopez Burgos, 2024).	14
Tabla 4. Métodos para la determinación de los análisis fisicoquímicos.....	16
Tabla 5. Método para la identificación de microorganismos.	18
Tabla 6. Composición fisicoquímica de muestra de queso madurado chihuahua.	19
Tabla 7. Calidad microbiológica del queso madurado chihuahua.	21

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Proceso de elaboración de queso madurado chihuahua.....	31
Anexo 2. Medición de A_w	31
Anexo 3. Medición de pH.	31
Anexo 4. Preparación del agua peptonada.	31
Anexo 5. Peso de la muestra.	32
Anexo 6. Preparación de la muestra.	32
Anexo 7. Dilución seriada.	32
Anexo 8. Siembra por profundidad.	32
Anexo 9. Gelificación.....	33
Anexo 10. Siembra por superficie.	33
Anexo 11. Aerobios Mesófilos.....	33
Anexo 12. Hongos y Levaduras.	33
Anexo 13. Bacterias ácido-lácticas.	33

I. RESUMEN

El queso madurado tipo chihuahua es un queso de pasta semidura que se produce mediante coagulación enzimática y puede fabricarse con leche pasteurizada o cruda. La variabilidad en los procesos de manufactura influye en las características del producto final, lo cual genera diferencias en el sabor, textura y perfil microbiano. Este estudio tuvo como objetivo determinar la microbiota de bacterias, hongos y levaduras involucradas en la maduración de queso Chihuahua. Se elaboró el queso en condiciones controladas a escala de laboratorio, utilizando una fórmula optimizada que incluyó tiempos específicos de prensado y maduración. Además, se realizaron análisis fisicoquímicos para evaluar la calidad del producto, y se identificaron microorganismos tanto en la corteza como en el interior mediante técnicas de siembra en superficie y en profundidad. Los resultados evidenciaron una comunidad microbiana diversa, destacando la importancia de las bacterias ácido-lácticas en la fermentación y desarrollo del sabor característico del queso. Los análisis fisicoquímicos cumplieron con las normativas de calidad, y las diferencias con estudios previos se atribuyeron a variaciones en los métodos de elaboración. Este trabajo proporciona una base para futuras investigaciones enfocadas en la optimización de los procesos de maduración y en el desarrollo de nuevos productos derivados del queso Chihuahua.

Palabras claves: coagulación enzimática, trazabilidad, perfil microbiano.

II. INTRODUCCIÓN

El queso Chihuahua, un producto lácteo tradicional de México, es resultado de una compleja interacción entre la leche, los cultivos iniciadores y una diversa comunidad microbiana. Sin embargo, aún se desconoce qué tipo de poblaciones microbianas están presentes en cada etapa de su elaboración y qué cambios ocurren en una variación de tiempo y temperatura en estas poblaciones a lo largo de la manufactura y almacenamiento.

Durante las últimas dos décadas se ha logrado estudiar y comprender mejor la ecología microbiana de diversos ecosistemas alimentarios mediante el uso de técnicas de biología molecular, las cuales han constituido una herramienta poderosa en el estudio de la diversidad y dinámica de poblaciones microbianas en diversas matrices alimentarias (Giraffa & Carminati, 2008). Lo anterior ha permitido el avance del conocimiento sobre las diferentes poblaciones de microorganismos durante la producción de alimentos madurados, sobre todo durante la manufactura y maduración de algunos quesos.

Es así, que en este trabajo se llevó a cabo la caracterización de la diversidad y dinámica de las poblaciones microbianas durante la maduración del queso Chihuahua, ya que en nuestro país carece de información de este tipo de derivados lácticos y a su vez el difuso conocimiento acerca de los microorganismos benéficos que puedan existir en la corteza y en el interior del queso madurado.

III. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

Determinar la microbiota de bacterias, hongos y levaduras que participan en la maduración del queso tipo chihuahua.

2.2. Objetivos específicos

- Elaborar el queso chihuahua mediante una formula optimizada a escala de laboratorio.
- Realizar análisis fisicoquímicos al queso madurado tipo chihuahua, evaluando parámetros como pH, acidez, contenido de cenizas que influyen en su calidad y maduración.
- Cuantificar la presencia de microorganismos en la corteza y en el interior en el queso madurado tipo chihuahua diferenciando entre bacterias, hongos y levaduras que contribuyen en el proceso de maduración.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Historia y características del queso Chihuahua: Origen del queso Chihuahua y propiedades generales.

4.1.1. Quesos madurados

(González Martínez , 2020) define que los quesos madurados son aquellos que además de cumplir con la descripción general de queso, son sometidos a un proceso de maduración mediante adición de microorganismos, bajo condiciones controladas de tiempo, temperatura y humedad, para provocar en ellos cambios bioquímicos y físicos característicos del producto del que se trate, lo que le permite prolongar su vida de anaquel. Los quesos madurados se caracterizan por ser de pasta dura, semidura o blanda y pueden tener o no corteza, así como pueden o no requerir condiciones de refrigeración.

4.1.2. Queso chihuahua

El Queso Chihuahua, producido en el nortero estado de Chihuahua (México), es un queso semiduro similar al Chester, una versión del Cheddar con mayor humedad y menos tiempo de maduración. Aunque el queso se elabora tradicionalmente con leche cruda, la pasteurización de la leche es esencial para minimizar el riesgo de microflora indeseable en este tipo de queso, que suele venderse y consumirse entre 3 y 6 semanas después de su fabricación (Van Hekken, Tunick, Tomasula, & Molina-Corral, 2020).



Figura 1. Imagen de un típico queso Chihuahua artesanal (Ortiz Estrada, 2020)

4.1.3. Características fisicoquímicas

Se caracteriza por ser un queso semiduro, olor medio-alto de leche fresca, leche cocida y mantequilla fundida, humedad y carácter graso, mínimamente madurado (3-6 semanas), con notas de sabor amargo, agrio y salado, y con capacidad para fundirse por lo que, se emplea leche pasteurizada el queso carece de hoyos, mientras que cuando se usa leche cruda poseerá pequeños agujeros (Ortiz Estrada, 2020).

(Van Hekken, Tunick, Tomasula, & Molina-Corral, 2020) mencionan que la presentación final, aunque con diferentes dimensiones, tiene la forma de un cilindro aplanado o, típicamente, de barras rectangulares. Cuando está bien madurado, es una pasta de color amarillo dorado, que se rebana fácilmente, de gusto un tanto cremoso, con un sabor y aroma lácteo delicado.

Desde el punto de vista tecnológico, algunos autores definen al queso Chihuahua como una mezcla entre el queso cheddar y el queso brick, con textura semidura y fácil de desmenuzar. Sin embargo, estudios dedicados a describir la textura y dureza de este queso, lo clasifican como un queso con características similares a la del queso colby fresco así lo define (Van Hekken, Tunick, Tomasula, & Molina-Corral, 2020). De manera general, se pueden distinguir dos tipos de queso Chihuahua: el queso Chihuahua elaborado con leche cruda y el

queso Chihuahua elaborado con leche pasteurizada, que junto con el procesamiento y peculiaridades de la calidad de la leche otorgan características sensoriales particulares al producto.

4.1.4. Proceso de manufactura

(Ortiz Estrada, 2020) en la etapa de pre maduración de la leche durante el proceso de elaboración del queso chihuahua, las bacterias ácido lácticas (BAL), son responsables del sabor y aroma, influyendo de igual forma en la textura y fundido de este queso, por ello se han realizado investigaciones acerca de los microorganismos predominantes de este queso, incluso se ha explorado el potencial antimicrobiano, producción de aroma y capacidad proteolítica del mismo para generar péptidos bioactivos por BAL aisladas de queso chihuahua.

La etapa más crítica en la manufactura del QC es la chedarización, proceso donde se lleva a cabo la acidificación de la pasta, la cual debe encontrarse específicamente entre 32-38 grados Dornic (°D), hecho que es crucial en el desarrollo de las características deseables de este queso asegura en su investigación doctoral (Ortiz Estrada, 2020).

4.2. Condiciones de los procesos de maduración

(Gastalver Robles, 2020) menciona que las condiciones ambientales se crean para favorecer la proliferación de ciertos microorganismos que ayudan a la maduración de los quesos o para conseguir las características organolépticas peculiares de los mismos, y al mismo tiempo para inhibir la proliferación de microorganismos indeseables.

4.2.1. Temperatura

La temperatura influye sobre la velocidad del crecimiento de la flora y sobre la actividad de las enzimas, así como sobre las enzimas del cuajo (Gastalver Robles, 2020). En la etapa posterior a la maduración, se debe mantener de forma general una temperatura de entre 5 - 16 °C dependiendo de la tipología de queso y de los microorganismos de afinado que intervengan. Por último, una vez se alcance el estado óptimo de maduración, los quesos se deben mantener en almacenamiento a 4 °C, esto para evitar el desarrollo excesivo microbiano asegura (Lopez Rios, 2020).

4.2.2. Humedad

La humedad variara según el tipo de queso y el tiempo de maduración. En quesos de pastas blanda la humedad relativa de las cámaras o espacios naturales deben tener una humedad relativa alta debe oscilar entre 90%, para evitar una perdida extrema de agua, se debe considerar las condiciones ambientales indicadas (Gastalver Robles, 2020).

4.2.3. Tiempo

(Sanchez Gamboa, 2017) en su investigación indica que el tiempo de maduración depende del tipo de queso y las características que se desean obtener, pudiendo variar este periodo desde días, meses e incluso años, dependiendo de las condiciones en que se almacena.

4.3. Microorganismos nativos como cultivos iniciadores.

Los cultivos iniciadores, también conocidos como “de arranque o starters”, se definen como preparaciones de gran número de células, ya sea de un solo tipo o mezcla de dos o más microorganismos que son aplicados a los alimentos con el fin de aprovechar los compuestos o productos derivados de su metabolismo o actividad enzimática (Leroy, F., y L. De-Vuyst., 2004). Estos son un constante objeto de estudio y se han empleado con el fin de reducir los

tiempos de fermentación, homogenizar procesos, potenciar sabores, aromas, contribuir a la salud y bienestar y lograr características sensoriales deseables en los productos finales (Karimi, Mortazavian, & Amiri-Rigi, 2019).

(Alegría, 2019) indica que se ha reportado que el uso de microorganismos aislados de los mismos procesos artesanales de elaboración del queso (cepas nativas) resultan convenientes, debido a que presentan actividad metabólica adaptada, lo que influye en que las propiedades organolépticas típicas de los quesos puedan ser reintegradas y la preferencia de los consumidores no se vea alterada.

4.4. Principales agentes microbiológicos presentes en el queso.

(González Martínez , 2020) en su tesis doctoral señala que los microorganismos son componentes esenciales de varios tipos de queso y juegan un papel importante en la producción, maduración y almacenamiento del queso. Se pueden distinguir dos grupos principales: la microbiota inicial y secundaria. Dependiendo del tipo de queso, estos microorganismos se pueden utilizar individualmente o en diversas combinaciones. A medida que el queso madura, la flora utilizada como flora inicial es responsable de la formación de ácido, y la flora secundaria desencadena una serie de reacciones bioquímicas responsables de desarrollar el sabor y la textura requeridos.

(Ortiz Estrada, 2020) asegura en su estudio que, sin embargo, a pesar de una infinidad de investigaciones, a la fecha, se desconoce la totalidad de la microbiota del queso chihuahua, debido a que sólo se ha logrado identificar aquellos microorganismos que pueden crecer en medios de cultivo sintéticos, lo cual ha limitado el conocimiento del papel que tienen estos microorganismos en las características típicas de este queso.

4.4.1. Microbiota primaria.

4.4.1.1. Bacterias ácido lácticas (BAL).

El género *Lactobacillus* es el grupo más grande y heterogéneo dentro de las bacterias lácticas, comparten varias características como son bajo contenido de G + C (<55% en moles), alta tolerancia al ácido, no forman esporas, son aerotolerantes, pero no aeróbicas, con requerimientos nutricionales muy exigentes, catalasa negativa y productores de ácido láctico como principal producto de la fermentación (Van Hekken, Tunick, Tomasula, & Molina-Corral, 2020).

Los diversos géneros de bacterias ácido-lácticas se han definido sobre la base de su morfología celular, ADN y tipo de fermentación. Según el metabolismo de los carbohidratos las bacterias lácticas se dividen en dos grupos principales de especies según la naturaleza y la concentración de los productos finales resultantes de la fermentación de la glucosa: homofermentativas y heterofermentativas (facultativos y obligados) (Ortiz Estrada, 2020).

4.4.1.2. Cultivos iniciadores.

En este sentido, *Lactococcus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus. delbrueckii* y *Lactobacillus helveticus* son considerados como SLAB, las cuales pueden ser añadidas deliberadamente como CIs durante la manufactura o bien pueden ser contaminantes naturales de la leche, como en el caso de muchos quesos artesanales elaborados con LC todo esto debido a la gran diversidad de microorganismos que pueden ser usados como CIs, la caracterización de su funcionalidad en la producción de alimentos fermentados es motivo de una exhaustiva investigación (González Martínez , 2020).

4.4.2. Microbiota secundaria

(González Martínez , 2020) menciona en su estudio de la vida anaquel en el queso madurado chihuahua que la microbiota secundaria son microorganismos que no forman parte de las SLAB, por lo tanto, no están involucrados en la producción de ácido. Sin embargo, su presencia y desarrollo en el queso se debe a que estos microorganismos están presentes en la materia prima, utensilios, ambiente de procesamiento y/o almacenamiento. Por otro lado, el microbiota secundaria puede estar presente en el queso como cultivos secundarios o adjuntos incorporados en forma intencional.

4.4.2.1. Hongos.

(Viljoen, 2015) Los hongos, en general crecen en un amplio rango de temperaturas, que puede ir desde -4°C hasta alcanzar temperaturas máximas de 60-65°C. Algunos hongos son imprescindibles en la elaboración de distintas variedades de quesos, debido a que son esenciales para alcanzar las características deseables de algunos quesos madurados hongos como *Penicillium camemberti* y *Penicillium roqueforti*.

(Ruiz Navarro, 2023) menciona que los hongos son importantes en la maduración de ciertas variedades de queso, dando lugar a dos grupos. Los que se someten a maduración debido a la presencia de *Penicillium roqueforti* que crece en el interior del queso y *Penicillium camemberti* que crece en la superficie del queso.

(Ruiz Navarro, 2023) en su tesis final de grado señala que el desarrollo de hongos es necesario en quesos donde su presencia es características, como en el queso chihuahua *Penicillium commune* (especie derivada de *P. camemberti*) tiene un papel activo y modifica por sí mismo la humedad del queso, favoreciendo el desarrollo de una corteza semidura, es responsable de la descomposición de las proteínas y grasas del queso, lo que le da su textura cremosa y sabor característicos. En estos casos, la presencia de hongos es fundamental para

que el queso adquiriera determinadas características sensoriales deseadas, como apariencia, sabor, olor y textura.

4.4.2.2. Levaduras.

Las levaduras pueden estar presentes en otros tipos de quesos diferentes a los de superficie madurados. De hecho, en muchos casos la presencia de estos microorganismos es indeseable, debido a que producen sabores y olores desagradables (Viljoen, 2015). Sin embargo, en otros casos su presencia es deseable, debido a que imparten características de olor y sabor en algunos quesos (N., 2015). Incluso, algunas especies de los géneros *Kluyveromyces*, *Debaryomyces* y *Saccharomyces* son usadas como cultivos adjuntos para acelerar el proceso de maduración (Karimi, Mortazavian, & Amiri-Rigi, 2019).

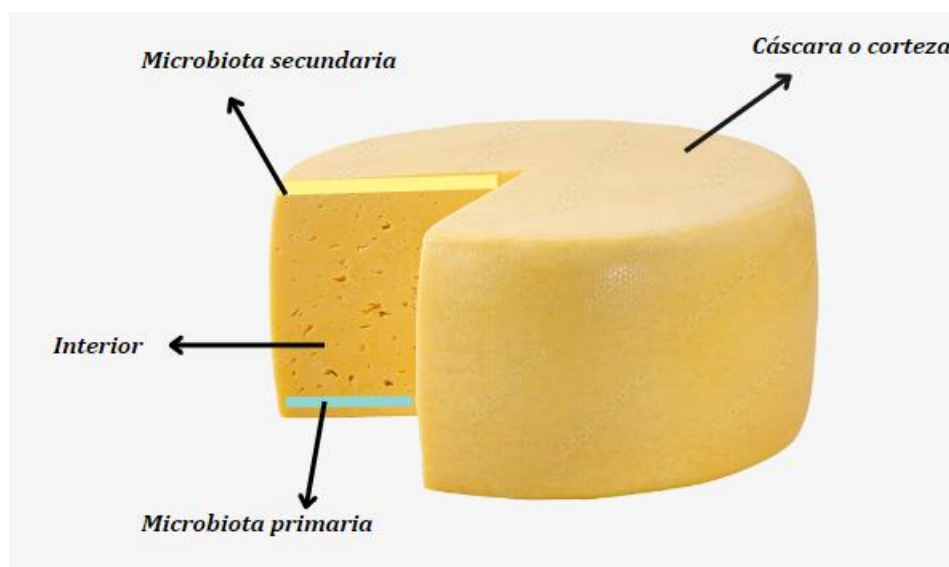


Figura 2. Microbiota del queso madurado chihuahua.

V. MATERIALES Y METODO

5.1. Ubicación

La elaboración del queso chihuahua de manera artesanal se llevo a cabo en la planta de lácteos (*Figura 3*) ubicado en las instalaciones de la Universidad Nacional de Agricultura localizada en el Barrio, El Espino, de la ciudad de Catacamas, Olancho.



Figura 3. Planta Procesadora de lácteos, UNAG, Olancho

Posteriormente la investigación que comprende en los análisis fisicoquímicos y microbiológicos fue realizado en el Laboratorio de frutas y hortalizas y el Laboratorio de bioconversiones ambos ubicados en las instalaciones de la Universidad Nacional de Colombia, con sede en Palmira, en el municipio de Valle del Cauca.



Figura 4. Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira.

5.2. Materiales y equipo.

- **Materia prima:** Se utilizarán 20 litros de leche proveniente de la sección de bovinos de la Universidad Nacional de Agricultura, se utilizará cuajo líquido titanium de la marca Hansen, cultivo termófilo (R-704) y cloruro de calcio (sal) de la marca la tortuga adquirida en Catacamas.
- **Materiales de uso personal:** gabacha, redecilla, mascarilla, botas de hule, guantes de nitrilo.
- **Materiales:** Tinas de acero inoxidable, liras, molino, tamices, mesas, cuchillo, cucharas, coladores, recipientes, moldes de madera, bolsas plásticas
- **Materiales de laboratorio:** Matraz, beaker, micropipeta, Erlenmeyer, soporte, bureta.
- **Equipos e instrumentos:** Balanza analítica, termómetro, pH metro digital, balanza de humedad, estufa eléctrica, butirómetro.
- **Reactivos:** se utilizará agua destilada, solución NaOH 0.1N, fenolftaleína (indicador), azul de amilina al 3%.

5.3. Metodología

Tabla 1. Tratamientos.

Tiempo de maduración	Temperatura de maduración
5 días	16 °C

Tabla 2. Niveles y variables de respuesta de los tratamientos.

Tratamientos	Tiempo (días)	Temperatura °C	Variables de respuesta
1	5	16	Presencia de microorganismos (UFC/g)
			Propiedades fisicoquímicas (%)

La investigación se desarrolló en tres etapas (*Figura 6*).

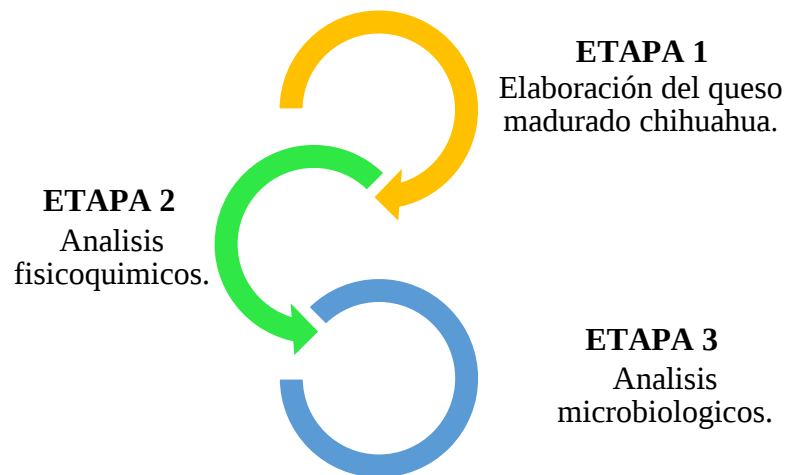


Figura 5. Etapas de la investigación.

5.3.2. Etapa 1: Proceso de elaboración del queso madurado chihuahua.

Para la elaboración el queso madurado chihuahua se llevó a cabo una formulación optimizada de una tesis de grado, tomando como valor los tiempos de prensado, cultivo termófilo (R-704), cuajo líquido titanium, tiempo y temperatura de maduración (Lopez Burgos, 2024).

Tabla 3. Formulación optimizada queso madurado chihuahua (Lopez Burgos, 2024).

N°	Ingredientes	Cantidad
1	Leche de vaca	20 Lt
2	Cuajo liquido	4 ml
3	Cultivo termófilo (R-704)	4 g
4	Sal	100 g

5.3.3. Etapa 2: Análisis Fisicoquímicos.

5.3.3.1. Acidez titulable.

El análisis se realizó empleando la metodología de la NOM-243-SSA1-2010, se utilizaron 2 g de muestra hasta obtener una mezcla homogénea con 20 ml de agua destilada con ayuda del Ultra Turrax, luego se le añadieron 2 gotas de indicador de fenolftaleína, luego se llenará la bureta con solución de NaOH 0.1N gota por gota haciendo movimientos suaves, la titulación continua hasta el primer cambio de color con la aparición de un color rosa permanente por lo menos 30 segundos, cada una por triplicado.

$$\%Acidez \frac{g}{L} (\text{Ácido Láctico}) = \frac{(VL * N^{eq} - \frac{g}{L} * N * 0.090 \frac{g}{eq} - g}{M (mL)} * 100$$

La acidez está representada en %Ácido Láctico. Donde “V” es el volumen de la solución de NaOH gastada, “N” es la normalidad de la solución de NaOH (0.1N), “M” volumen de la muestra en ml y “0.090” es el equivalente de ácido láctico según la (AOAC 947.05).

5.3.3.2. pH

El pH de la muestra se determinó utilizando un pH-metro SI ANALYTICS Lab 855 previamente calibrado utilizando soluciones buffer de pH 4 y pH 7, introduciendo el

electrodo directamente en 2g de la muestra homogénea con 20mL de agua destilada con ayuda del Ultra Turrax , por triplicado empleando la metodología de la (AOAC, 2006).

5.3.3.3. Humedad

Se tomó una muestra de 5 g para determinar el porcentaje de humedad secando la muestra en una estufa a 2 temperaturas diferentes (60 °C; 105°C) ambas por un lapso de 24 horas. Tras el secado, las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente en un desecador hasta obtener una masa constante, en donde se tomó la lectura en el tiempo final y se utilizaron las siguientes fórmulas según interés.

Determinar el contenido de humedad en base húmeda:

$$\frac{Ph - Ps}{Ph}$$

Determinar el contenido de humedad en base seca:

$$\frac{Ph - Ps}{Ps}$$

Donde:

Ph: Peso húmedo

Ps: Peso seco

5.3.3.4. Aw

Para determinar la aw se utilizó un medidor de agua (AQUALAB SERIES 3 TE). Se pesaron 0.30 g de la muestra y se colocaron en un recipiente de muestra y se introdujo en la cámara se cierra herméticamente para asegurar que el equilibrio se establezca rápidamente. El control interno de temperatura facilita la medición de la actividad del agua a temperatura constante, la temperatura a la que se produce la condensación es el punto de rocío, a partir del punto de rocío, el instrumento calcula la humedad relativa del aire en la cámara, que es equivalente a la actividad de agua de la muestra

5.3.3.5. Cenizas

El contenido de cenizas en el queso madurado se determinó utilizando 5 g de la muestra, que se pesó directamente en un crisol de porcelana previamente pesado y secado. Por último, la muestra se colocó en un horno de mufla a 550 °C durante 2 horas, para incinerar las muestras. Al final de este periodo, los crisoles se transfirieron a desecadores para su enfriamiento, pesaje y cálculos.

Fórmula para la determinación de cenizas:

$$\%C = \frac{\text{Peso del crisol con cenizas (g)} - \text{Peso del crisol solo (g)}}{\text{gramos de muestra}} * 100$$

Tabla 4. Métodos para la determinación de los análisis fisicoquímicos.

Tipo de análisis fisicoquímicos	Método
Acidez	Titulación
pH	pH metro
Aw	Higrométrico
Cenizas (%)	Calcinación
Humedad (%)	M. gravimétrico

5.3.4. Etapa 3: Análisis microbiológicos.

Para el recuento de aerobios mesófilos, bacterias ácido lácticas, hongos filamentosos y levaduras presentes en el queso madurado chihuahua se utilizaron placas petrifilm, mediante las guías de uso de 3M, los métodos oficiales son: para bacterias aerobias mesófilas es el AOAC 990.12, hongos y levaduras AOAC Método Oficial 997.02.

Se pesaron 10 gramos de la muestra de queso madurado chihuahua por triplicado, se anotó el peso, luego la muestra se trituro con un mortero y se calculó el volumen de diluyente estéril (agua peptona al 0.1%), preparando así la primera dilución 1:10.

5.3.4.1. Microorganismos indicadores de calidad.

Para la siembra de aerobios mesófilos se realizó mediante el método de profundidad, con una micropipeta se añadieron 15 ml del caldo previamente preparado especial para BAL y 100 μ L de las diluciones seriadas, la preparación del caldo es la siguiente: se le adiciono 13 g de agar nutritivo broth diluidos en 1000 ml de agua destilada y como gelificante se agregó 4 g de agar agar diluidos en 300 ml de agua destilada. Se esperó 5 minutos a que se solidifique el gel haciendo movimientos sutiles y se colocaron las placas petrifilm en una incubadora a 37°C durante 48 horas.

5.3.4.2. Bacterias ácido-lácticas

Para la siembra de BAL se hizo mediante el método de profundidad, con una micropipeta se añadieron 15 ml del caldo previamente preparado especial para BAL y 100 μ L de las diluciones seriadas, la preparación del caldo es la siguiente: se le adiciono 53 g de agar MRS diluidos en 1000 ml de agua destilada y como gelificante se agregó 13 g de agar agar diluidos en 1000 ml de agua destilada. Se esperó 5 minutos a que se solidifique el gel haciendo movimientos sutiles y se colocaron las placas petrifilm en una incubadora a 37°C durante 48 horas.

5.3.4.3. Hongos y levaduras

Para la siembra de hongos y levaduras se hizo mediante el método de siembra en superficie, se añadieron 15 ml del caldo previamente preparado especial para hongos y levaduras se dejó solidificar y luego con una micropipeta se añadieron 1000 μ L del inóculo a las placas petrifilm, con la ayuda de una aza bacteriológica previamente esterilizada se extiende el inóculo hasta su absorción total por el medio del cultivo, la preparación del caldo es la

siguiente: se le adiciono 40 g de agar PDA diluidos en 1000 ml de agua destilada. Se colocaron las placas petrifilm en una incubadora a 27°C durante 96 horas.

Tabla 5. Método para la identificación de microorganismos.

Tipo de análisis microbiológicos	Método
Recuento de bacterias ácidos lácticos.	Método de siembra por profundidad
Recuento de aerobios mesófilos.	Método de siembra por profundidad
Recuento de levaduras y hongos filamentosos.	Método de siembra por superficie

5.4. Variables por evaluar

5.4.1. Variables dependientes

- Carga en la flora microbiana (bacterias, hongos y levaduras).
- Propiedades fisicoquímicas (%humedad, %cenizas, color, textura, acidez, pH).

5.4.2. Variables independientes

- Tiempo de maduración
- Temperatura de maduración

VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1. Análisis fisicoquímicos

En la *tabla 6* se muestran resultados de análisis fisicoquímicos de humedad, A_w , materia seca, acidez, pH y cenizas también resultados calculados de humedad (base humedad) y humedad (base seca) presente en el queso madurado chihuahua mediante fórmulas estandarizadas.

Tabla 6. Composición fisicoquímica de muestra de queso madurado chihuahua.

Muestra	(%) HBH	(%) HBS	(%) MS	(%) A_w	(%) Acidez	pH	(%) Cenizas
Q1	44.21±0.52	79.24±1.67	55.79±1.67	0.90±0.01	2.2±0.15	5.2±0.32	4.99±0.02

Nota: Actividad de agua (A_w), contenido de humedad base humedad (HBH), contenido de humedad en base seca (HBS), Materia seca (MS).

El valor de humedad en base húmeda obtenido fue de 44.21%, mientras que en base seca fue de 79.24%. Estos valores indican que el queso tiene una humedad intermedia, lo cual es típico de quesos semiduros como el queso Chihuahua (NMX-F-209-1985) esto indica que los niveles de humedad observados en el presente estudio son adecuados para lograr las características deseadas de textura en el queso Chihuahua.

La actividad de agua fue de 0.90, un valor que permite la proliferación de ciertos microorganismos benéficos para la maduración, pero que también requiere un control cuidadoso para evitar el crecimiento de patógenos, el valor se encuentra dentro del rango óptimo de la A_w de agua de la categoría de quesos madurados siendo este de 0,90 – 0,95 de

la NMX-F-209-1985, lo cual es consistente con los resultados obtenidos en el presente estudio y respalda la viabilidad del queso Chihuahua como un producto seguro durante su almacenamiento.

El contenido de materia seca fue de 55.79%, lo cual refleja una concentración significativa de nutrientes y sólidos en el queso. En un estudio realizado por (Torres Vaca & Gudiño Sono, 2008) existe un valor cercano en el nivel de materia seca del queso cheddar alrededor de un 60% de materia seca en un tiempo de prensado de 240 min con 25 días de maduración, a diferencia del queso chihuahua con un tiempo de prensado de 60 min con 5 días de maduración con un promedio de 55,79% de materia seca, se observa que el porcentaje de materia seca es inversamente proporcional a tiempo de prensado y tiempo de maduración.

La acidez fue de 2.2% y el pH de 5.2, ambos valores son característicos de un proceso de maduración controlado, donde las bacterias ácido-lácticas desempeñan un rol importante en el desarrollo de los sabores y la textura del queso. El pH de la muestra cumple con las Normas Oficiales Mexicanas (NMX-F-209-1985, n.d.) para este estilo de queso (5,0-5,5), por lo tanto el tiempo de acidificación de la cuajada y el prensado fue positivo impactando en el fundido y en el resultado final. En el queso Chihuahua, la acidificación de la pasta permite obtener la textura y el proceso de maduración adecuados.

Durante la fermentación de la lactosa por BAL, algunos intermediarios del piruvato son transformados a compuestos que contribuyen al sabor, como diacetil, acetona, acetaldehído y ácido acético. La acidez incrementa al máximo en las primeras horas o días y luego disminuye, porque el ácido láctico se combina con el calcio y otras sales en el queso (SMIT et al., 2005).

El porcentaje de cenizas fue de 4.99%, lo cual refleja el contenido mineral del queso, importante para el sabor y valor nutricional. En estudios realizados en quesos semiduros, se reportan valores de cenizas entre 4-6% (Ivette Béjar-Lio et al., 2020) que indica que el

contenido mineral de nuestro queso es comparable a otros productos similares. Según estudios de composición mineral en quesos madurados, un alto contenido de cenizas está asociado a mayores concentraciones de calcio y fósforo, minerales importantes para la salud ósea y que también aportan al perfil sensorial del producto

6.2. Análisis Microbiológicos

En la tabla 7 se presentan los resultados de la calidad microbiológica de la muestra de queso madurado chihuahua, se incluye el recuento de mesófilos aerobios, bacterias ácido-lácticas (BAL), hongos y levaduras, tanto en la corteza como en el interior.

Tabla 7. Calidad microbiológica del queso madurado chihuahua.

MUESTRA	MICROORGANISMO		RECuento TOTAL Log UFC/g
Q1	MMA	Corteza	$3,5 \times 10^6$ UFC/g
		Interior	$2,8 \times 10^6$ UFC/g
	BAL	Corteza	$6,2 \times 10^6$ UFC/g
		Interior	$5,9 \times 10^4$ UFC/g
	Hongos y levaduras	Corteza	$4,6 \times 10^3$ UFC/g
		Interior	$2,5 \times 10^4$ UFC/g

Nota: Microorganismos mesófilos aerobios (MMA), bacterias ácido-lácticas (BAL).

El conteo de MMA en la muestra analizada de la corteza y del interior oscilaron en los rangos de 2,8 a 3,5 log₁₀ UFC/g. Aunque la Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010 no se establece un rango máximo permitido de MMA en quesos, los resultados de este estudio son similares a los reportados por (TUNICK et al., 2008); quienes reportaron valores de MMA en el rango de 6.08 a 9.61 log₁₀ UFC/g en quesos de LC (leche cruda) y LP (leche pausterizada) elaborados en queserías Menonitas ubicadas en Cd. Cuauhtémoc, Chihuahua, incluso los valores reportados por estos autores están por encima de los reportados en el presente trabajo.

Sin embargo, en otro estudio realizado por los mismos autores (TUNICK et al., 2007) se reportaron valores de MMA en el rango de 6.08 a 7.95 log₁₀ UFC/g en quesos Menonitas elaborados con LC (leche cruda) y LP (leche pausterizada) en la misma época del año donde se recolectaron las muestras analizadas en el presente estudio. Lo anterior, pone de manifiesto la similitud de los resultados de los estudios antes mencionados con los valores encontrados en este estudio.

El conteo de hongos y levaduras (HL) en la muestra del queso madurado chihuahua se encontró en el rango de 2,5 a 4,6 Log₁₀ UFC. En cuanto a la corteza los conteos microbianos están fuera de los 2.69 log₁₀ UFC/g permitidos por la normativa mexicana (SSA, 2010). Un ejemplo en el queso Cheddar (un queso muy similar al Chihuahua) se ha logrado identificar una diversidad de levaduras que influyen en las características finales de este queso (Welthagen & Viljoen, 1999) incluso algunos estudios se han realizado a fin de evaluar el efecto de ciertas levaduras agregadas como cultivos adjuntos en la elaboración del queso Cheddar, las cuales mostraron tener la capacidad de acelerar el proceso de maduración y la formación de compuestos de aroma (Ferreira, 2003). Además, algunos estudios han reportado que las levaduras interactúan con las bacterias (principalmente BAL) promoviendo su crecimiento y desarrollo debido a la producción de vitaminas y otros compuestos (Welthagen & Viljoen, 1999).

El conteo de BAL encontrados oscilaron en el rango de 5,9 a 6,2 log₁₀ UFC/g. Los análisis microbiológicos mostraron que las BAL fue el grupo microbiano que presentó los conteos más elevados en la muestra bajo estudio. Los resultados de este estudio son muy similares a los encontrados por (Bricker & Van Hekken, 2005) que reportaron conteos de BAL en QC elaborado con LP en el rango de 3.94 a 7.24 log₁₀ UFC/g y de 6.27 a 9.08 log₁₀ UFC/g en QC elaborado con LC, y aunque se observa un comportamiento heterogéneo en los valores encontrados para los tiempos de almacenamientos analizados, en general los conteos microbianos de BAL no fueron menores a los encontrados en la muestra. Lo cual pone de

manifiesto que las BAL son la microbiota predominante durante los tiempos de almacenamientos evaluados. Por lo anterior, sería conveniente realizar estudios para evaluar el impacto de los cambios en los conteos microbianos de BAL en los tiempos de almacenamiento bajo estudio, respecto a su papel en las características de sabor, olor y textura típicas del QC.

VII. CONCLUSIONES

Se logró identificar una diversidad de microorganismos en la microbiota del queso madurado chihuahua, los resultados mostraron que se encontraron bacterias ácido lácticas, hongos y levaduras que participan en el proceso de maduración.

Se desarrollo un protocolo de elaboración de queso Chihuahua a escala de laboratorio mediante una formula optimizada que permite obtener un producto final con características aceptables, tanto desde el punto de vista fisicoquímico como microbiológico. Los resultados obtenidos abren nuevas perspectivas para la optimización de los procesos de elaboración y para la generación de nuevos productos derivados del queso Chihuahua.

Los resultados del análisis fisicoquímico del queso Chihuahua indican que las muestras analizadas cumplen en general con las especificaciones establecidas en la norma NMX-F-209-1985. Los valores de humedad, A_w , pH, acidez, cenizas se encuentran dentro de los rangos esperados para este tipo de queso, lo que indica que la muestra analizada cumple con los requisitos de calidad establecidos. Al comparar los resultados con estudios previos, se observaron similitudes en cuanto a los analisis realizados, la variación de estos podría estar relacionado en las prácticas de elaboración.

Los análisis microbiológicos de la muestra de queso muestran que esta cumple con las especificaciones microbiológicas de la normatividad mexicana para este tipo de productos. Los quesos no presentaban bacterias de riesgo para la salud de los consumidores, siendo estas las dominantes en el queso madurado chihuahua. La presencia de bacterias ácido-lácticas indica una fermentación láctica adecuada, contribuyendo al desarrollo de la acidez y al sabor característico del queso. Los hongos y levaduras, por su parte, pueden estar involucrados en la formación de costras, la producción de enzimas y la generación de compuestos aromáticos.

VIII. RECOMENDACIONES

Realizar análisis bromatológicos para determinar el valor nutricional del queso Chihuahua y su potencial como fuente de compuestos bioactivos.

Estudiar la composición de los lípidos del queso, incluyendo ácidos grasos libres y triglicéridos, para comprender su influencia en el sabor y la textura.

Explorar la posibilidad de desarrollar nuevos productos a partir del queso Chihuahua, como quesos funcionales, quesos madurados con diferentes microorganismos o quesos con adiciones de ingredientes naturales.

Realizar análisis moleculares para identificar con mayor precisión las especies de bacterias ácido-lácticas, hongos y levaduras presentes en el queso Chihuahua.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Alegria, A. P.-B. (2019). *Characterization of the technological behavior of mixtures of mesophilic lactic acid bacteria isolated from traditional cheeses made of raw milk without added starters*. Int. J. Dairy Technol., 69:507-519. doi:10.1111/1471-0307.12253.
- Bonilla, C., & Gurdián, C. (2011). *Evaluación de dos temperaturas de ahumado y empaque en atmósferas modificadas en las propiedades físico-químicas y sensoriales del queso Cheddar*. 27. <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/883>
- Bricker, A., & Van Hekken, D. (2005). *MICROFLORA ISOLATE FROM MEXICAN-MENNONITE-STYLE CHEESES*. 637-640.
- Carranco, L., & Rodriguez, J. (2015). *Incidencia del contenido de grasa de la leche de vaca, dosis del probiótico (Lactobacillus casei 01) y temperatura de inoculación del cultivo en la elaboración de queso fresco*. 102.
- CARVALHO, L., H., S., & et al. (2017). *Fermentation profile and identification of lactic acid bacteria and yeast of rehydrated corn kernel silage*. Journal of Applied Microbiology, v. 122, n.3 p. 589-600.
- Cercenado Mansilla, E., & Cantón Moreno, R. (2019). *Aplicaciones de la espectrometría de masas MALDI-TOF en Microbiología clínica*. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 5-15.

Cervantes Escoto, F., Villegas, A., Cesin Vargas, A., & Espinoza Ortega, A. (2008). *Los Quesos Mexicanos Genuinos*. Patrimonio cultural que debe rescatarse. Mexico.

Chacón Flores, N. A. (2023). *CAMBIOS EN LA ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN DE CUAJADA CHEDDARIZADA Y SU EFECTO COMO MÉTODO DE CONSERVACIÓN EN QUESO CHIHUAHUA*.

Chamorro M, & Losada M. (2002). El análisis sensorial de los quesos. *AMV Ediciones*.

FERREIRA, D., & Sisvar , F. (2014). *Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons*. Ciencia e agrotecnologia, p. 109-112.

Ferreira, A. (2003). Yeasts as adjunct starters in matured Cheddar cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 86(1–2), 131–140. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00252-6](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00252-6)

Gastalver Robles, M. d. (2020). *Maduracion y envasado de quesos*. España: ELEARNING S.L.

Giraffa, G., & Carminati, D. (2008). *Molecular Techniques in Food Fermentation: Principles and Applications*. Molecular Techniques in the Microbial Ecology of Fermented foods., 1-30.

González Martínez , M. T. (2020). *Evaluación del desarrollo de aminos biógenas en queso chihuahua durante la vida de anaquel*. Barcelona: Universidad Autonoma de Barcelona.

Karimi, R., Mortazavian, A., & Amiri-Rigi, A. (2019). *Selective enumeration of probiotic microorganisms in cheese*. Food Microbiol, 29:1-9. doi:doi:10.1016/j.fm.2011.08.008

López-Díaz, J. A., & Martínez-Ruiz, N. del R. (2018). Perfil sensorial y fisicoquímico del queso chihuahua considerando las preferencias del consumidor. *SENSORIAL AND PHYSICOCHEMICAL PROFILE OF CHIHUAHUA CHEESE CONSIDERING CONSUMER PREFERENCES*.

Leroy, F., y L. De-Vuyst. (2004). *Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry*. Trends Food Sci. Technol., 15:67-78.

Lopez Burgos, H. A. (2024). *Elaboración y evaluación sensorial de la calidad de queso madurado tipo chihuahua a escala de laboratorio*. Catacamas. Olancho, Honduras: Universidad Nacional de Agricultura.

Lopez Rios, A. L. (2020). *Tecnología de afinado de quesos*. Sevilla: Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera.

Molina, D. (2010). *Análisis de la Cadena de Valor Láctea de Honduras*. PRONAGRO/SAG.

N., N. Č.-V. (2015). *Evaluation of lactic acid bacteria and yeast diversity in traditional white pickled and fresh soft cheeses from the mountain regions of Serbia and lowland regions of Croatia*. International Journal of Food Microbiology, 166(2):294-300.

NMX-F-209-1985. (n.d.). ALIMENTOS-LACTEOS-QUESO TIPO CHIHUAHUA. *NORMA MEXICANA (DIRECCION GENERAL DE NORMAS)*.

Ortiz Estrada, Á. M. (2020). *Diversidad y dinámica de las poblaciones microbianas durante la manufactura y almacenamiento del queso chihuahua*. Hermosillo, Sonora: Centro de investigación en alimentación y desarrollo.

- Ramírez-López, C., & Vélez-Ruiz, J. (2012). *Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad*. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental.
- Ruiz Navarro, P. M. (2023). *Estudio de la degradacion de un medio analogo de queso por diferentes especies fungicas bajo la influencia de distintas condiciones ambientales*. Madrid: Tecnologia de las industrias agrarias y alimentarias.
- Sanchez Gamboa, C. (2017). *Diversidad y dinámica del microbioma de bacterias lácticas del queso chihuahua*. Nuevo Leon: Universidad Autonoma de Nuevo Leon.
- SMIT, G., SMIT, B., & ENGELS, W. (2005). Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(3), 591–610. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2005.04.002>
- Torres Vaca, A. M., & Gudiño Sono, H. F. (2008). *Evaluacion del tiempo de prensado y tiempo de maduracion en que semiduro tipo cheddar*. 1–183.
- Tot Formatge. (2024). Obtenido de <https://totformatge.com/es/formatgepedia/el-queso-clasificaciones/>
- TUNICK, M. H., VAN HEKKEN, D. L., CALL, J., MOLINA-CORRAL, F. J., & GARDEA, A. A. (2007). Queso Chihuahua: effects of seasonality of cheesemilk on rheology†. *International Journal of Dairy Technology*, 60(1), 13–21. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2007.00295.x>

- TUNICK, M. H., VAN HEKKEN, D. L., MOLINA-CORRAL, F. J., TOMASULA, P. M., CALL, J., LUCHANSKY, J., & GARDEA, A. A. (2008). Queso Chihuahua: manufacturing procedures, composition, protein profiles, and microbiology. *International Journal of Dairy Technology*, 61(1), 62–69. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2008.00359.x>
- Van Hekken, D., Tunick, M., Tomasula, P., & Molina-Corral, F. y. (2020). Mexican queso Chihuahua: rheology of fresh. *International Journal of Dairy Technology*. , 60:5-12.
- Viljoen, B. (2015). The interaction between yeasts and bacteria in dairy environments. *International Journal of Food Microbiology*, 69(1–2):37-44.
- Welthagen, J. J., & Viljoen, B. C. (1999). The isolation and identification of yeasts obtained during the manufacture and ripening of Cheddar cheese. *Food Microbiology*, 16(1), 63–73. <https://doi.org/10.1006/fmic.1998.0219>

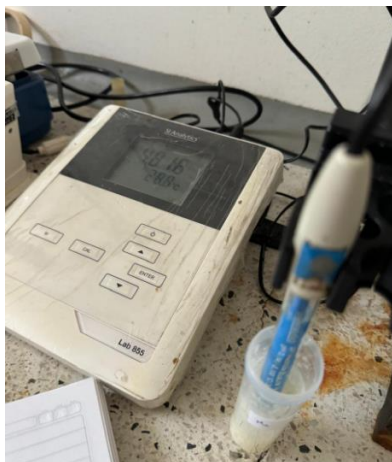
X. ANEXOS



Anexo 1. Proceso de elaboración de queso madurado chihuahua.



Anexo 2. Medición de Aw



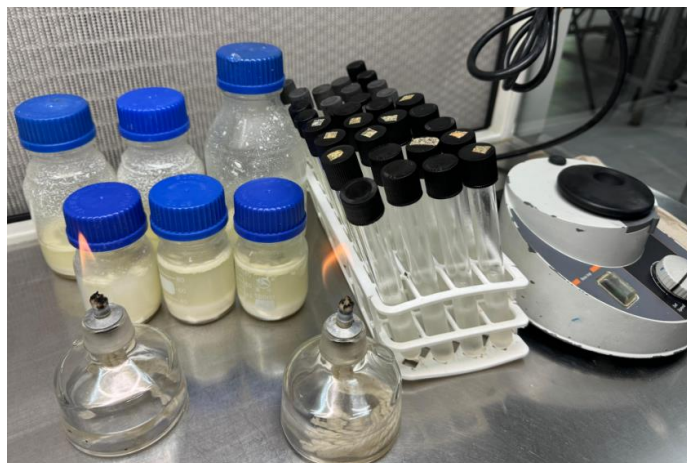
Anexo 3. Medición de pH.



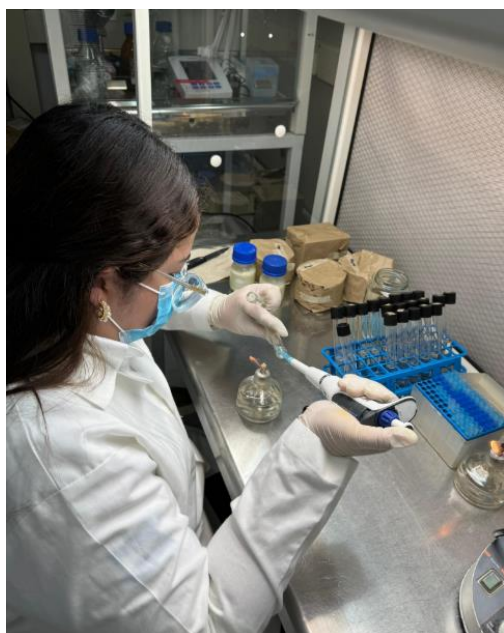
Anexo 4. Preparación del agua peptonada.



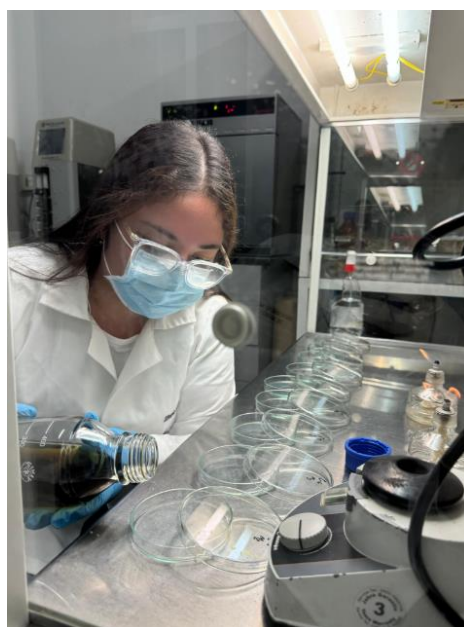
Anexo 5. Peso de la muestra.



Anexo 6. Preparación de la muestra.



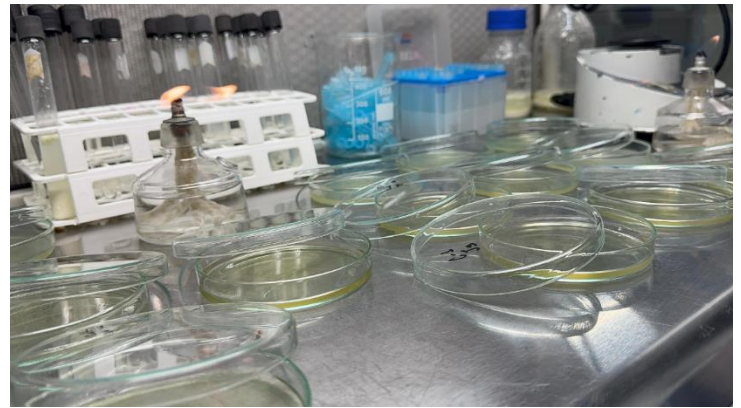
Anexo 7. Dilución seriada.



Anexo 8. Siembra por profundidad.



Anexo 10. Siembra por superficie.



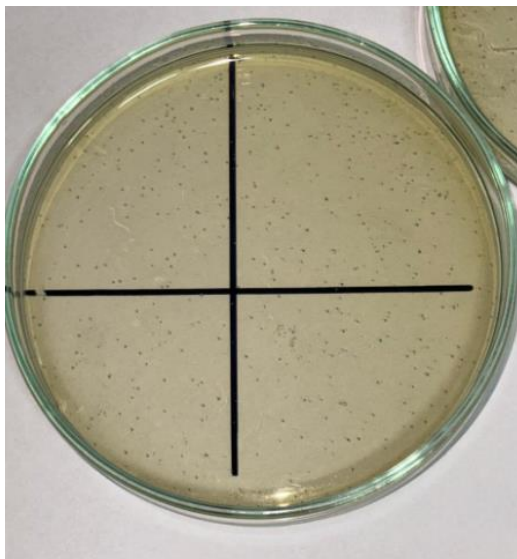
Anexo 9. Gelificación.



Anexo 11. Aerobios Mesófilos.



Anexo 12. Hongos y Levaduras.



Anexo 13. Bacterias ácido-lácticas.