



DESARROLLO Y APLICACIÓN DE UN PROCEDIMIENTO DE EVALUACIÓN DE LA VIDA ÚTIL SECUNDARIA EN QUESOS

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Curso: 2017/18

Alumno: LEONOR FERNANDEZ ISASI

Tutor Académico: DANIEL SANCHO RINCÓN

Máster en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos
E.T.S. Ingenierías Agrarias, Campus de la Yutera (Palencia)
Universidad de Valladolid



ÍNDICE

ÍNDICE.....	1
RESUMEN Y ABSTRACT.....	2
1. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN.....	3
2. OBJETIVOS.....	4
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	5
3.1. Alcance del procedimiento.....	5
- Proceso madurativo.....	5
- Tipo de formato.....	7
- Sistema de envasado.....	7
3.2. Procedimiento de evaluación de la vida útil secundaria.....	8
- Toma de muestras y frecuencia analítica.....	8
- Determinaciones analíticas.....	9
a) Determinaciones microbiológicas.....	9
b) Determinaciones físico-químicas.....	12
c) Análisis sensorial.....	13
3.3. Aplicación del procedimiento.....	14
- Muestras objeto de estudio.....	14
- Frecuencia analítica.....	15
- Determinaciones analíticas.....	16
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
4.1. Análisis del cumplimiento de los criterios microbiológicos durante la vida útil secundaria.....	17
4.2. Evolución de los parámetros físico-químicos durante el periodo de vida útil secundaria:.....	20
4.3. Análisis sensorial de los quesos a lo largo de la vida útil secundaria.....	25
5. CONCLUSIONES.....	27
6. AGRADECIMIENTOS.....	28
7. BIBLIOGRAFÍA.....	28



RESUMEN

El presente trabajo trata de desarrollar y aplicar un procedimiento de evaluación de la vida útil secundaria en quesos para garantizar la calidad y seguridad de los mismos tras la apertura del envase que los contiene.

En la introducción se define el concepto de vida útil secundaria y se menciona la norma de etiquetado que hace referencia al uso de la misma. Seguidamente, se desarrolla el procedimiento de evaluación de la vida útil secundaria, el cual aúna los análisis microbiológicos, físico-químicos y sensoriales a realizar. Así mismo, se indican los quesos que forman parte del alcance de este procedimiento atendiendo a las características intrínsecas y extrínsecas de los mismos.

Posteriormente, se aplica el procedimiento desarrollado a las muestras de quesos objeto de estudio (queso en lonchas mezcla tierno light de tres marcas diferentes, una determinada marca que especifica la vida útil secundaria en la etiqueta y las otras dos no). Finalmente, se exponen los resultados de las diferentes determinaciones analíticas y, en base a éstas se constata el cumplimiento de la vida útil secundaria especificada en una de las marcas y se establece que la vida útil secundaria de las otras dos es inferior a 3 días.

Palabras clave: Vida útil secundaria, quesos, calidad y seguridad alimentaria

ABSTRACT

This essay tries to develop and apply the evaluation process of secondary shelf life in cheeses to guarantee the quality and security of them after opening the package.

Firstly, the concept of secondary shelf life is introduced and the labelling rule that refers to this concept is mentioned.

After that, the process of evaluation of the secondary shelf life is developed. This process includes microbiological, physicochemical and sensorial analyses. Moreover, the cheeses that belong to the process are indicated.

Later, the process is applied to three different brands of cheese (slices of young light). In one of the brands the secondary shelf life is indicated while in the others is not.

Finally, the results are given. The secondary shelf life which is specified is adequate and the ones which are not specified are less than three days.

Key words: secondary shelf life, cheese, quality and security food

1. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN

Hoy en día, tanto en el desarrollo de nuevos productos y envases alimentarios como en el empleo de nuevas tecnologías emergentes de conservación, está cobrando especial importancia el término de vida útil de los alimentos. Esto se debe a que la industria agroalimentaria intenta ofrecer a los consumidores productos con un mayor valor añadido, donde adquiere especial consideración este aspecto.

La **vida útil de un alimento** se define como el periodo de tiempo en el que, tras su producción o envasado, éste reúne las siguientes características al ser conservado en unas condiciones determinadas de almacenamiento (Rodríguez, 2006):

1. Inocuidad y seguridad alimentaria.
2. Adecuadas características físico-químicas, microbiológicas y sensoriales.
3. Características nutricionales conforme a las declaradas en su etiquetado.

Por tanto, la vida útil de un alimento comprende el tiempo transcurrido entre su producción/envasado y el momento en el que se producen cambios significativos en el mismo, que condicionan un rechazo en el consumidor final (Valencia et al., 2008).

En los productos que se comercializan envasados, como es el caso de los quesos del presente estudio, al hablar de vida útil cabe diferenciar entre dos términos (Daroz, 2016):

- **Vida útil primaria:** Hace referencia a la durabilidad del producto siempre que no se lleve a cabo la apertura del envase.
- **Vida útil secundaria:** Es la durabilidad del producto tras la apertura del envase (sobre este aspecto se basará esta memoria fin de máster).

Por el contrario, como cabe esperar, los alimentos sufren alteraciones si no se consumen a lo largo de la vida útil de los mismos o si no se conservan en unas condiciones determinadas, generando lo que se conoce como “alimentos alterados”. Éstos, según el Código Alimentario Español, son aquellos “que durante su obtención, preparación, manipulación, transporte, almacenamiento o tenencia, y por causas no provocadas deliberadamente, sufren variaciones en sus caracteres organolépticos, composición química o valor nutricional, de tal forma que la aptitud para el consumo queda anulada o disminuida, aunque permanezcan inocuos” (“Código Alimentario Español (Decreto 2484/1967, de 21 de Septiembre),” 1987). Además, un alimento puede también ser considerado como “alterado” cuando posee propiedades físico-químicas, sensoriales y nutricionales adecuadas pero representa un riesgo para la salud pública (Rodríguez, 2006).

Por consiguiente, para evitar el deterioro de los alimentos y asegurar al consumidor que va a obtener la máxima calidad y seguridad en sus productos, es imprescindible que la empresa alimentaria determine la vida útil primaria y secundaria de cada uno de los alimentos por medio de estudios de la misma. Dichos estudios garantizan que se cumplen los criterios establecidos en el Reglamento (CE) nº 2073 / 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios y además, consideran otros factores que afectan y modifican la durabilidad de los alimentos (*Etiquetado alimentario. Programa de información a los consumidores, 2015*).

Esta información relativa a la vida útil específica de cada alimento debe ser transmitida al consumidor por medio de las etiquetas alimentarias. Razón de ello es que dentro de las menciones obligatorias se encuentran la fecha de consumo preferente o la fecha de caducidad. Sin embargo, la vida útil secundaria no es uno de los criterios obligatorios a especificar, aunque sí que sería conveniente en ciertos alimentos porque si el envase se abre, las condiciones de conservación cambiarán. A este hecho se refiere el artículo 25 del Reglamento (UE) nº 1169 / 2011, ya que enuncia que en determinadas ocasiones, cuando el producto pueda sufrir variaciones en sus propiedades tras la apertura del envase, será útil especificar las condiciones y/o fechas límites de consumo para que los consumidores hagan una utilización adecuada de los mismos.

Teniendo todo esto en cuenta, es de vital importancia elaborar un procedimiento de evaluación de la vida útil secundaria en los quesos para verificar que los periodos y condiciones establecidas en el etiquetado de los mismos, acerca de la conservación y uso de los mismos una vez abierto el envase, son los adecuados.

2. OBJETIVOS

Los **objetivos principales** del presente trabajo son:

- Elaborar un procedimiento para evaluar la vida útil secundaria de los quesos.
- Con la aplicación de dicho procedimiento, estudiar la vida útil secundaria de diferentes marcas de queso del mercado semejantes entre sí constatando el cumplimiento de la misma en la marca de quesos que especifica la vida útil secundaria en la etiqueta.

Para alcanzar estos objetivos principales, se plantearon las siguientes acciones:

- Revisar la bibliografía y legislación vigente que afecta a esta materia para llevar a cabo la elaboración del procedimiento.
- Analizar los resultados relativos a los diferentes análisis en cada uno de los quesos y extraer conclusiones.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Alcance del procedimiento

Para el análisis de la vida útil secundaria de un alimento se deben considerar todos aquellos factores que afectan a su durabilidad. Por ello, en los estudios de vida útil secundaria se tienen en cuenta tanto los factores intrínsecos (actividad de agua (a_w), pH, composición nutricional, estructura, disponibilidad de oxígeno, potencial Redox (Eh), etc.) como los extrínsecos de los alimentos (proceso de elaboración, higiene y manipulación, materiales y sistemas de envasado, tiempo de almacenamiento, distribución, lugares de venta, etc.) (Valencia et al., 2008). Tras considerarlos, se establecerá cuáles, por sus características intrínsecas y extrínsecas, requieren un estudio de vida útil secundaria. Esto es así porque, al ser la vida útil secundaria una herramienta para mejorar la utilización y conservación de los alimentos una vez abierto el envase, es más útil estudiarla en aquellos alimentos que pueden deteriorarse en un menor tiempo.

Teniendo esto en cuenta, serán objeto de alcance del procedimiento aquellos quesos que posean unas características intrínsecas y extrínsecas que les condicionen una menor durabilidad. Para poder determinarlos, se estudiarán aquellos factores extrínsecos que van a condicionar cambios en las propiedades intrínsecas de estos productos, afectando en consecuencia a su conservación. Dentro de éstos factores extrínsecos destacan los siguientes:

- **Proceso madurativo**

Según el Real Decreto 1113 / 2006, por el que se aprueban las normas de calidad para quesos y quesos fundidos, se define como “queso madurado” a aquel que, tras el proceso de fabricación, requiere mantenerse durante cierto tiempo a una temperatura y en condiciones tales que se produzcan los cambios físicos-químicos característicos, así como aromas y sabores deseados. Los quesos se clasifican según el tiempo de maduración que requieren en quesos tiernos, semicurados, curados, viejos y añejos.

Según el Real Decreto 1113 / 2006, estas denominaciones se pueden aplicar siempre que se cumpla lo que se muestra en la Tabla 1:

Tabla 1. Denominaciones facultativas de los quesos madurados según RD 1113 / 2006

Denominaciones facultativas	Maduración mínima en días	
	Peso > 1,5 kg	Peso ≤ 1,5 kg
Tierno	7	7
Semicurado	35	20
Curado	105	45
Viejo	180	100
Añejo	270	-

Todas las categorías de quesos mencionadas en la Tabla 1, a pesar de que difieren en el tiempo de maduración, comparten el hecho de que pierden humedad de una forma gradual y sostenida tras someterse a estos procesos madurativos (cuanto mayor sea el grado de maduración menor será la humedad). Este hecho trae consigo una serie de consecuencias (Gastalver, 2015) (García, 2006):

- Incremento de la concentración del extracto seco total de los mismos.
- Disminución de la actividad de agua (a_w), lo que trae consigo un aumento de las barreras para el crecimiento microbiano.
- Reducción de las reacciones alterantes químicas, enzimáticas y microbiológicas en las que interviene el agua, incrementando en consecuencia la vida útil.
- Cambios en la apariencia y textura (aumento del color y dureza).
- Modificación de la composición nutricional del producto, ya que se modifica la proporción de cada uno de los componentes al verse reducida la cantidad de agua.

Por tanto, al ser la maduración un factor que conlleva cambios en las propiedades intrínsecas y en la conservación del queso, debe considerarse a la hora de estudiar la vida útil secundaria de los mismos. En los quesos no madurados (frescos) o que sufren procesos de maduración mínima (tiernos), será útil analizar la vida útil secundaria ya que poseen unas características intrínsecas (mayor humedad, mayor a_w , etc.) más desfavorables que les van a condicionar una menor durabilidad con respecto a aquellos quesos sometidos a procesos de maduración más prolongados, y por ello, formarán parte del alcance del procedimiento.

- **Tipo de formato**

Existen diferentes formatos en los que se pueden presentar los quesos (enteros o troceados en cuñas, cuñas cortadas, lonchas, etc.) y ello también afecta a su vida útil secundaria.

Por un lado, se debe tener en cuenta que cuanto mayor sea el grado de corte del queso, menor será la vida útil secundaria del producto. Esto se debe a que la superficie de la parte comestible aumenta y por tanto, su exposición a la atmósfera y a los agentes físico-químicos alterantes es mayor. En consecuencia, se reduce considerablemente la vida útil del producto (Martín, 2013). Sin embargo, los quesos que no se han sometido a ningún proceso de corte (piezas de queso enteras, barras, etc.) presentan una mayor vida útil, ya que la superficie de exposición de la parte comestible del queso es menor, y por tanto, se encuentra más protegida de esos agentes alterantes. Por consiguiente, la pieza de queso entera tendrá más vida útil que una cuña, y ésta a su vez más que una cuña laminada y que una loncha. Por ello, conformarán el alcance del procedimiento aquellos quesos sometidos a procesos de corte y/o loncheado.

Por otro lado, los quesos blancos pasteurizados (untables) se presentan en forma de tarrina, que es otro tipo de formato. Estos productos son más inestables ya que presentan una mayor proporción de agua en su composición así como una mayor actividad de agua y, por tanto, pueden ser más fácilmente alterados. En consecuencia, también serán objeto de alcance del procedimiento.

- **Sistema de envasado**

En lo que a sistemas de envasado de quesos se refiere, fundamentalmente se emplean dos tipos que a continuación se enuncian (García et al., 2006):

- **Envase al vacío:**

Se trata de una técnica de conservación basada en la extracción del aire del envase con el fin de prolongar la vida útil de los alimentos.

- **Envase en atmósfera modificada:**

Proceso mediante el cual se procede a la eliminación del aire interior del envase y se inyecta un gas, que en el caso de los quesos suele ser o nitrógeno o anhídrido carbónico, o una mezcla fija de los mismos creada artificialmente. Mediante esta técnica se genera una nueva atmósfera que rodea al producto e inhibe los mecanismos de deterioro de los alimentos.

Sin embargo, se debe tener en cuenta que una vez abierto el envase, sea cual sea la naturaleza del mismo, las condiciones de conservación del producto se modifican. Los diferentes sistemas de envasado garantizan la conservación del producto durante la vida útil primaria. Sin embargo, durante la vida útil secundaria pierden sus propiedades conservantes.

Pese a ello, existen unos sistemas de envasado más flexibles denominados recerrables que garantizan una mayor protección tras producirse la apertura del envase con respecto al resto de sistemas de envasado. Teniendo en cuenta que dichos sistemas de envasado incrementan la durabilidad del producto, será más útil estudiar la vida útil secundaria de aquellos quesos que no porten estos envases recerrables ya que su conservación se verá más comprometida. Por ello, serán los quesos con este tipo de sistema de envasado los que formen parte del alcance del procedimiento.

3.2. Procedimiento de evaluación de la vida útil secundaria

Todos los quesos de la empresa de la marca 1 que indican la vida útil secundaria en la etiqueta muestran la misma vida útil secundaria (5 días una vez abierto el envase). Por ello, será necesario elaborar un procedimiento general que pueda ser aplicado a todos estos quesos. Dicho procedimiento aunará un conjunto de análisis físico-químicos, microbiológicos, sensoriales, que posteriormente se detallarán. Estos análisis se han determinado tras tener en cuenta las especificaciones que dicta la legislación, fundamentalmente lo indicado en el Reglamento (CE) nº 2073 / 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.

- Toma de muestras y frecuencia analítica

Teniendo en cuenta la vida útil secundaria que señalan los fabricantes de los quesos de la marca 1, las determinaciones analíticas se realizarán los días 0, 3, 5, 7, 10 (coincidiendo el día 0 con el momento en el que se abre el envase), y a partir del día 10 se llevarán a cabo cada 10 días hasta que el producto no cumpla con las especificaciones. Esta frecuencia analítica se ha establecido considerando tanto el propio día en el que finaliza la vida útil secundaria del producto (día 5) como los días anteriores y posteriores a la misma.

Se ha establecido que a partir de los 10 días de estudio los análisis se espaciarán más en el tiempo ya que, tras el análisis de mercado realizado, no se han encontrado quesos que especifiquen más de 7 días en lo que a vida útil secundaria se refiere. De esta manera, se podrá valorar si el producto sigue manteniendo las características que

determinan su calidad y seguridad alimentaria durante el periodo de vida útil secundaria, y también si en los días posteriores a la misma se observan o no alteraciones.

Por otro lado, cada día de análisis se estudiarán 3 muestras de diferentes lotes por cada categoría de queso, garantizando de este modo la aleatorización para minimizar el error del proceso de muestreo. Finalmente, indicar que las muestras objeto de estudio se mantendrán, tal y como indica la etiqueta, en condiciones de refrigeración en una nevera doméstica durante los días de estudio.

- **Determinaciones analíticas**

a) *Determinaciones microbiológicas*

Estos análisis se realizarán de acuerdo con la legislación vigente, con la finalidad de asegurar que la carga microbiológica del producto final no supone un riesgo para el consumidor. Atendiendo al **Reglamento (CE) nº 2073 / 2005**, se debe cumplir con lo indicado en dicha normativa con respecto a los *Criterios de Seguridad Alimentaria*. Esto se debe a que dichos criterios son aplicables a los productos comercializados durante toda su vida útil y definen la aceptabilidad de los mismos en condiciones razonablemente previsibles de distribución, almacenamiento y utilización. Según esto, se analizarán los siguientes parámetros:

Determinar presencia / ausencia de Enterotoxinas estafilocócicas mediante el método europeo de detección del LCR para la leche (AOAC International) **en** quesos elaborados con leche cruda o con leche sometida a un tratamiento térmico inferior a la pasteurización, quesos madurados elaborados con leche o suero pasteurizados y quesos frescos elaborados con leche o suero sometidos a pasteurización, siempre y cuando posean valores de *Estafilococos coagulasa* positivos al final del proceso de fabricación superiores a 10^5 UFC/g. En estos casos tendrá que existir ausencia de las mismas en 25 gramos para cumplir la normativa.

Determinar presencia / ausencia de Salmonella en los quesos elaborados con leche cruda o sometida a un tratamiento térmico inferior a la pasteurización mediante el método horizontal para la detección, enumeración y serotipado de *Salmonella* (ISO 6579-1:2017). En el Reglamento nº 2073 /2005 se indica que se debe evaluar dicho factor a lo largo de la vida útil de los quesos que reúnan estas condiciones y para cumplir con lo que dicta la norma debe existir ausencia en 25 gramos.

Recuento de *Listeria monocytogenes* mediante el método horizontal para la detección y el recuento de *Listeria monocytogenes* y *Listeria spp* (ISO 11290-2:2017) en los quesos que no cumplan ninguna de las siguientes características:

pH \leq 4,4

$a_w \leq$ 0,92

pH \leq 5 y a_w 0,94

Productos con vida útil inferior a los 5 días

Quesos tratados térmicamente sin posible recontaminación posterior

Esto se debe a que en dicho Reglamento estos productos son considerados alimentos listos para el consumo que no pueden favorecer el desarrollo de este microorganismo. Por tanto, en los quesos que no reúnan estas características se deberá valorar si se puede o no desarrollar este microorganismo. Para cumplir con lo que dicta la norma no se deberá superar el límite máximo establecido (100 UFC/g).

El queso puede ser una matriz alimentaria adecuada para el desarrollo de *Listeria monocytogenes*, como se mostrará a continuación. Sin embargo, esto dependerá de las características de cada queso en particular y por ello, se deberá estudiar cada caso de forma individual.

- **Actividad de agua (a_w):**

De forma general, los valores de a_w del queso varían de 0.70-1.00, si bien la gran mayoría tiene valores cercanos a 0.90 e inferiores a 0.98 (Tabla 2). Teniendo en cuenta que *Listeria monocytogenes* prolifera en medios con $a_w > 0,92$, los quesos son una matriz adecuada para la misma (Medidas de Prevención y Control en los Establecimientos Alimentarios, 2015).

- **pH:**

El valor de pH en los quesos varía en base a diferentes parámetros (tipo de queso, proceso madurativo, etc.) como se aprecia en los ejemplos de la Tabla 2. Pese a ello, al ser por lo general matrices ácidas, impiden el crecimiento de la mayoría de las bacterias, aunque existen microorganismos excepcionales que sí que se pueden desarrollar, como es el caso de la *Listeria monocytogenes* ya que ésta prolifera en amplios rangos de pH (4,4-9,4) (Medidas de Prevención y Control en los Establecimientos Alimentarios, 2015).

Tabla 2. Valores de a_w y pH de algunos quesos españoles (Fox et al., 2004).

Tipo de queso	Valores medios de a_w	Valores medios de pH
Burgos	0,994	5,94
Arzúa	0,967	5,23
Mahón	0,881	4,94
Manchego	0,945	5,05
Castellano	0,918	5,23
Zamorano	0,923	5,19
Idiazábal	0,944	5,03
Majorero	0,942	4,88
Cabrales	0,887	5,67

Por otro lado, a mayores de lo indicado en el Reglamento (CE) nº 2073 / 2005, también se debe realizar “recuentos de mohos y levaduras totales” en los quesos, ya que el crecimiento de los mismos en estos medios es muy común por su facilidad de proliferar a bajos pH. Para ello se aplicará el método de enumeración de UFC/g de levaduras y/o mohos en leche y productos lácteos (ISO 6611: 2004). El crecimiento de algunas levaduras puede producir alteración de los quesos por diferentes motivos como es la generación de olores inapropiados (olores afrutados, a levadura, a rancio, etc.), la formación de gas, entre otros. También se deben considerar aquellos mohos alterantes que proliferan en la superficie de los quesos porque conducen a la formación de defectos en su apariencia (manchas pigmentadas, colonias visibles, etc.), pueden generar olores atípicos e incluso producir micotoxinas (Palacios, 2006).

Por último, se debe considerar que las muestras objeto de análisis se van a almacenar en neveras frigoríficas. Las temperaturas de refrigeración retardan, por lo general, tanto el crecimiento microbiano como las reacciones químicas y enzimáticas causantes de alteraciones. A pesar de ello, existen microorganismos que sí que pueden proliferar en estas condiciones, como son los microorganismos psicrófilos y psicrótrofos, y que por tanto habrá que valorar. Dentro de éstos, en los quesos será interesante evaluar a *las Pseudomonas* (Segundo, 2008). Sin embargo, estos microorganismos no resisten a la pasteurización, siempre y cuando se garanticen los tiempos y temperaturas características de ésta, por lo que sólo se valorará si existe presencia de las mismas en quesos elaborados con leche cruda. Para realizar estas determinaciones se aplicará el método de enumeración de *Pseudomonas spp* en leche y en productos lácteos (ISO/TS 11059: 2009).

En dichos análisis microbiológicos no se han tenido en cuenta aquellos microorganismos que ya se ha garantizado su ausencia al final del proceso de fabricación de los quesos (como es el caso de *Escherichia coli*, *Clostridium tyrobutyricum* y sus esporas, Bacterias coliformes, etc.).

b) Determinaciones físico-químicas

A continuación, se exponen los factores seleccionados a analizar en los quesos que forman parte del alcance de este procedimiento. Se deberá observar si a lo largo del periodo de vida útil secundaria se observan diferencias significativas en los valores de estos parámetros con respecto a los obtenidos al final del proceso de envasado.

▪ Extracto seco y Humedad:

El extracto seco del queso es el peso obtenido tras someterlo a un proceso de desecación generalmente en estufa. Este parámetro se expresa en %, es decir, en gramos de extracto seco por 100 g de queso. El procedimiento a seguir para la medición de este factor se describe en el método de referencia (B.O.E. 30-8-1979 Y 30-10-1991). Este parámetro es importante evaluarlo ya que tiene relación con la humedad del producto en base a la siguiente fórmula (López et al., 2015):

$$\text{Humedad (\%)} = 100 - \text{Extracto seco (\%)}$$

El contenido de humedad en los quesos varía en gran medida en base a diferentes factores como son el grado de maduración, la técnica de producción, etc. Sin embargo, es útil valorar este parámetro en cualquier tipo de queso ya que su determinación es una de las técnicas más importantes y de mayor uso en el procesado, control y conservación de los alimentos. Esto se debe a que el agua, si está presente por encima de ciertos niveles, facilita el desarrollo de los microorganismos. Por ello, el contenido de humedad en un alimento es, frecuentemente, un índice de estabilidad del producto.

Por otro lado, se pueden producir oscilaciones en estos parámetros tras abrir el envase en el que está contenido el queso, bien porque el queso pierda humedad e incremente el extracto seco o viceversa (por ejemplo, pueden producirse condensaciones en el envase abierto por las oscilaciones en la temperatura del mismo tras sacarlo y meterlo a la nevera, produciendo un incremento final de la humedad en el producto). Cualquier fluctuación en sus valores puede generar alteraciones en los parámetros que determinan la calidad y seguridad del producto y por ello deben ser analizados.

- **Sal:**

Se valorará también este factor ya que oscilaciones en los valores de otros parámetros, como por ejemplo la humedad, pueden condicionar cambios en sus valores. Por ejemplo, si el producto pierde humedad, se produce un incremento del extracto seco y por consiguiente el producto se vuelve más salado, produciendo cambios en sus características organolépticas. La determinación de este parámetro se realizará según el método cuantitativo oficial de análisis descrito por la AOAC (975.20, 1990).

- **Actividad de agua (a_w) y pH:**

Se estudiará también si existen modificaciones en estos parámetros a lo largo de la vida útil secundaria de los quesos ya que ambos condicionan el crecimiento y desarrollo de los microorganismos. La a_w es una medida que da una idea del agua disponible por parte de los microorganismos, y por tanto es el factor que más influye en el crecimiento de los mismos. Por otro lado, teniendo en cuenta que cada microorganismo tiene sus rangos de pH óptimos, variaciones en sus valores pueden condicionar la presencia de ciertos microorganismos. Además, el pH es un factor que influye a nivel sensorial en los alimentos y por ello también debe ser considerado (por ejemplo, si el pH disminuye posiblemente el alimento posea un sabor más ácido, etc.). En las muestras se analizará la a_w mediante la utilización de un higrómetro de punto de rocío a 25°C y el pH mediante la utilización de un ph-metro con electrodo de punción.

- **Temperatura:**

Se deberá asegurar, como indica la etiqueta, que el producto a lo largo del estudio se encuentra en condiciones de refrigeración y que no se producen grandes oscilaciones en su temperatura. Por ello, se verificará cada hora mediante el uso de un termobotón que la temperatura de la nevera doméstica empleada es la adecuada (la refrigeración se enmarca entre 2 y 8 °C aproximadamente).

c) *Análisis sensorial*

El análisis sensorial se llevará a cabo mediante pruebas sensoriales descriptivas. Más concretamente, se seleccionará como prueba analítica a realizar el Perfil Cuantitativo Descriptivo (QDA), el cual es una técnica de descripción y caracterización de los principales atributos sensoriales de un producto. Se trata de una de las metodologías más importantes del análisis sensorial que requiere de personal entrenado para valorar de forma objetiva y cuantitativa la intensidad de cada uno de los atributos seleccionados.

En dichas pruebas, realizadas cada día de análisis de manera independiente en las distintas categorías de quesos a evaluar, se comparará la muestra del día correspondiente de estudio ($t = x$; muestra prueba) con la muestra obtenida tras abrir el envase ($t = 0$; muestra testigo), siendo t el tiempo (expresado en días) que lleva abierto el envase. Con los datos obtenidos se elaborará un gráfico de tela de araña en el que se observe la evolución en el tiempo de los siguientes atributos sensoriales:

- Textura: dureza, friabilidad, cremosidad, fundibilidad
- Oído: chirriante
- Olor: intensidad olor, intensidad olfato-gustativa, intensidad global, persistencia
- Gusto: sabor salado, sabor ácido, sabor amargo

Estas pruebas analíticas sensoriales serán llevadas a cabo por el panel de catadores de la empresa de la marca 1, ya que éstos están entrenados para reconocer y evaluar los atributos citados anteriormente en los quesos de esta empresa.

Finalmente, cabe destacar que, a diferencia del resto de las determinaciones analíticas, en este caso sólo se analizará un lote por cada una de las categorías de queso a estudiar.

3.3. Aplicación del procedimiento

- Muestras objeto de estudio

En la Tabla 3 se presentan las muestras en las que se va a aplicar el procedimiento de evaluación de la vida útil secundaria desarrollado. Como se puede apreciar, las tres muestras pertenecen a la misma categoría de quesos (queso en lonchas mezcla tierno light) con el fin de facilitar la comparación entre ellas. Además, todas ellas forman parte del alcance del procedimiento descrito ya que son quesos loncheados sometidos a un proceso de maduración mínimo (tiernos).

Con la aplicación del procedimiento se analizará si las muestras de la marca 1 mantienen las características que determinan su calidad y seguridad durante su periodo de vida útil secundaria. Además, se estudiará la vida útil secundaria en muestras de la competencia que no la especifican en la etiqueta.

Tabla 3. Descripción de las características relativas a las muestras objeto de estudio

Marca	Categoría de queso	Lista de ingredientes	Sistema de envasado	Vida útil secundaria
Marca 1	Queso en lonchas mezcla tierno light	Leche pasteurizada de vaca (mín. 75%), oveja (mín 5%) y cabra (mín 5%), sal, cuajo y fermentos lácticos	Sistema recerrable y envasado en atmósfera protectora	5 días una vez abierto el envase
Marca 2	Queso en lonchas mezcla tierno light	Leche pasteurizada de vaca y vaca desnatada (mín 68%), cabra (mín 14%) y cabra (mín 3%), sal, cuajo y fermentos lácticos	Sistema recerrable y envasado en atmósfera protectora	No se especifica
Marca 3	Queso en lonchas mezcla tierno light	Leche pasteurizada de cabra (mín. 40%), vaca desnatada (mín 35%) y oveja (mín 10%), sal, cuajo, fermentos y secuestrante (E509)	Envasado en atmósfera protectora	No se especifica

- **Frecuencia analítica**

En los estudios fisicoquímicos y microbiológicos, cada día de estudio (día 0, 3, 5, 7, 10) se analizarán 3 muestras de distintos lotes por cada una de las marcas objeto de estudio, analizándose un total de 45 muestras (9 muestras por día). Dichos análisis se llevarán a cabo por un laboratorio externo acreditado.

Por otro lado, en las pruebas analíticas sensoriales tan solo se estudiarán las muestras de los quesos de la marca 1. Esto se debe a que, como ya se ha mencionado anteriormente, las catas serán ejecutadas por el panel de catadores de esta empresa. Éstos están entrenados para reconocer las diferencias existentes en estos quesos concretos y, por tanto, no podrán evaluar correctamente las diferencias existentes en las muestras de las otras marcas.

Finalmente, indicar que debido a la finalización del periodo de prácticas, a partir del día 10 de estudio no se han realizado más determinaciones analíticas.

- **Determinaciones analíticas**

a) *Determinaciones microbiológicas*

Dado que los quesos a analizar están elaborados con leche pasteurizada, tan sólo se estudiarán los siguientes parámetros de los citados en el procedimiento:

Enterotoxinas estafilocócicas: Se determinará cada día de análisis si existe presencia / ausencia de las mismas en todos los quesos objeto de estudio. Pese a que en el Reglamento nº 2073 / 2005 se indica que sólo se analizará este parámetro en los casos en los que los valores de Estafilococos coagulasa positivos al final del proceso de fabricación sean superiores a 10^5 UFC/g, se analizará este parámetro ya que no se disponen de esos datos (aunque se supone que si se hubiera dado ese caso no se habrían comercializado estos productos).

Listeria monocytogenes: Se realizará un recuento de la misma cada día de análisis en las diferentes muestras de estudio ya que tras revisar los valores de pH y a_w de las muestras correspondientes a la marca 1 previo al envasado ($\text{pH} \geq 4,4$ y $a_w \geq 0,92$), se debe estudiar si estos productos pueden favorecer el desarrollo de la misma por sus características intrínsecas.

Mohos y levaduras: Todos los días de análisis se deben realizar recuentos de mohos y levaduras totales en las muestras de estudio, ya que el crecimiento de los mismos en estos medios es muy común.

b) *Determinaciones físico-químicas*

Se estudiarán los parámetros citados anteriormente (extracto seco, humedad, pH, a_w , sal y temperatura de la nevera frigorífica), y se valorará si existen diferencias significativas en sus valores a lo largo de los días de estudio.

c) *Análisis sensorial*

El análisis sensorial se desarrollará de la manera descrita en el procedimiento en las muestras de la marca 1.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para constatar el cumplimiento de la vida útil secundaria especificada en los quesos de la marca 1 y para estudiar la vida útil secundaria de los quesos de las marcas 2 y 3 se aplica el procedimiento desarrollado anteriormente.

4.1. Análisis del cumplimiento de los criterios microbiológicos durante la vida útil secundaria

En relación a las determinaciones microbiológicas, tras analizar los parámetros de interés que aplican a este tipo de quesos, se puede apreciar lo siguiente:

Enterotoxinas estafilocócicas: Todos los días de análisis se determinó ausencia de enterotoxinas estafilocócicas en todas las muestras de las diferentes marcas. Por ello, cumplen con lo que dicta el Reglamento nº 2073 / 2005, ya que se indica que debe existir ausencia de las mismas en 25 gramos. Si en cambio existiera presencia de enterotoxinas, indicaría que se habrían comercializado las muestras con valores de Estafilococos coagulasa positivos superiores a 10^5 UFC/g al final del proceso de fabricación, lo cual es improbable.

Listeria monocytogenes: En ninguna de las muestras objeto de estudio se determinó presencia de este microorganismo. Por tanto, cumplen con lo que dicta el Reglamento nº 2073 / 2005 en los días analizados ya que al haber ausencia de las mismas no se supera el límite máximo establecido (100 UFC/g) en dicho Reglamento.

Mohos y levaduras: Se requiere como criterio de aceptación de las muestras, como se puede apreciar en la Tabla 4, que el recuento de mohos y levaduras totales oscile entre 10^2 y 10^3 UFC/g. Para evaluar este parámetro cada día de estudio se deben analizar 5 muestras de cada tipo de queso (n) y tan sólo 2 de estas muestras (c) pueden igualar o superar el límite máximo permitido (M).

Tabla 4. Criterios de mohos y levaduras requeridos para la aceptación de las muestras estudiadas (Máster Calidad Desarrollo e Innovación, Asignatura de Microbiología, 2018)

Parámetro	Criterios de aceptación			
	n	c	m	M
Recuento de hongos y levaduras (UFC/g)	5	2	10^2	10^3

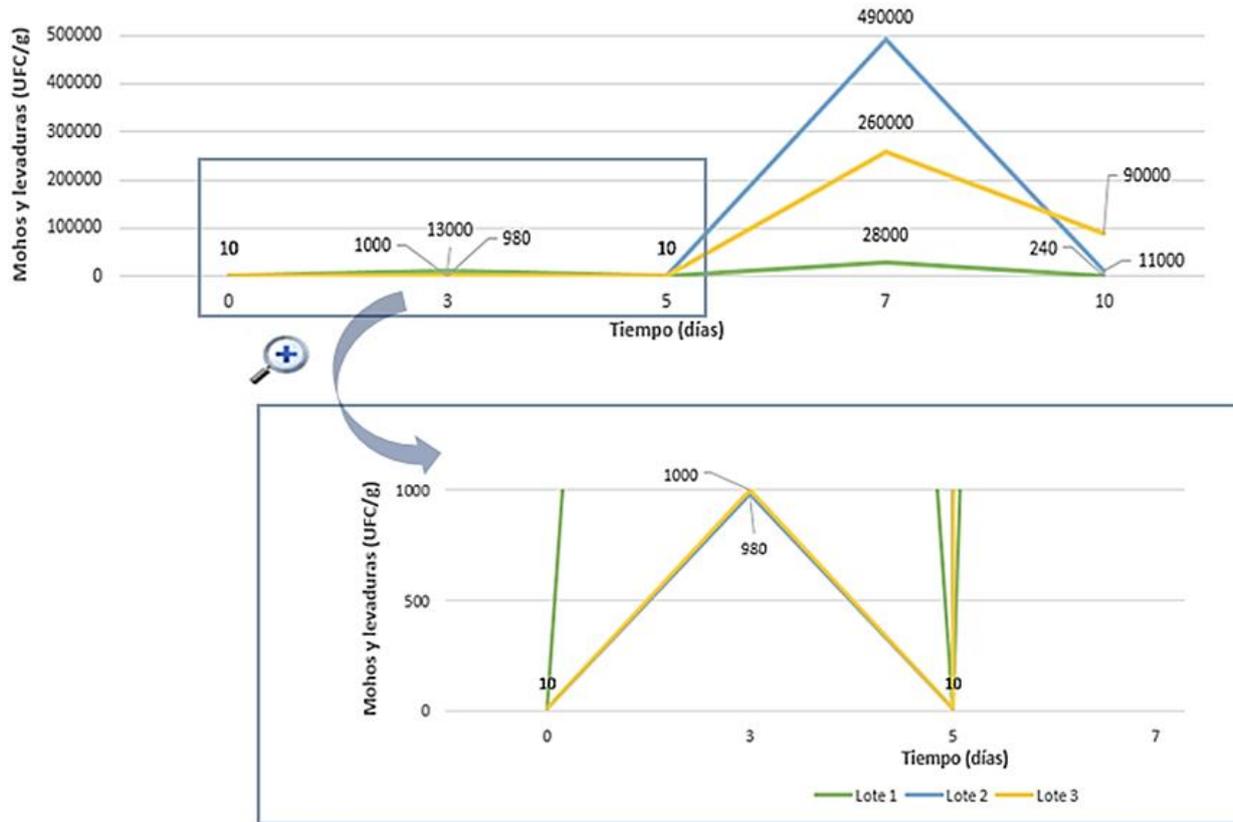


Figura 1. Recuento de mohos y levaduras totales en los tres lotes de estudio correspondientes a la marca 2 de quesos

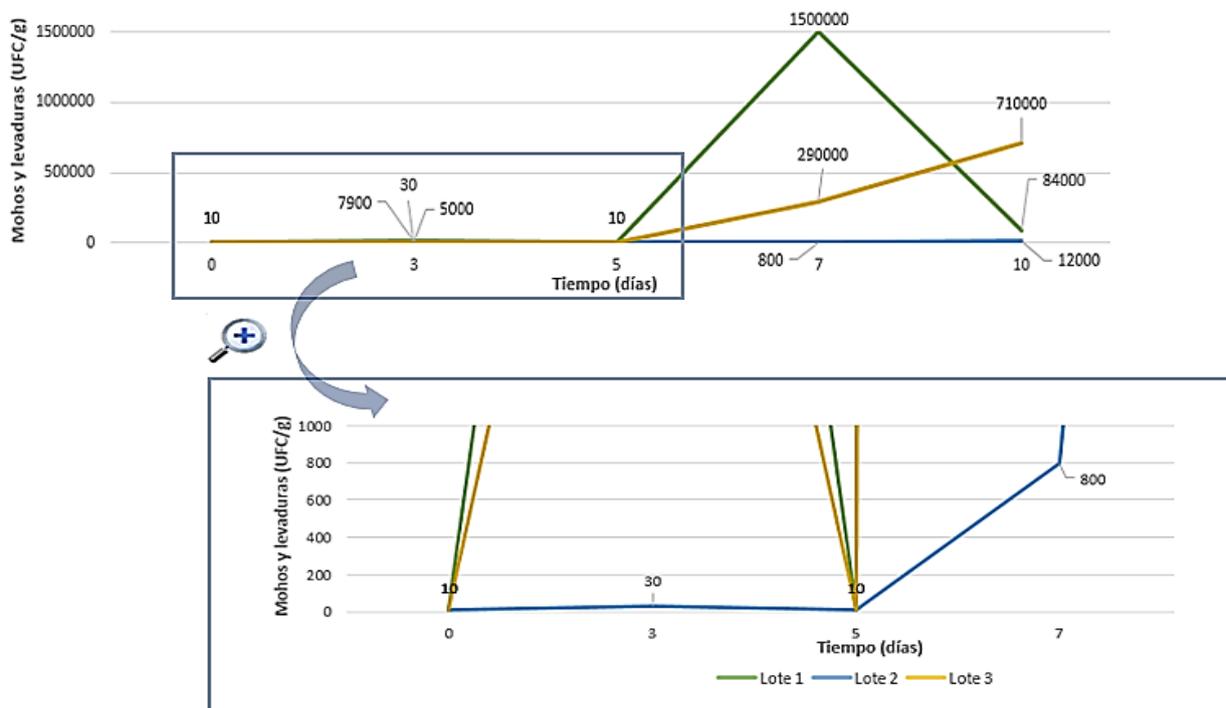


Figura 2. Recuento de mohos y levaduras totales en los tres lotes de estudio correspondientes a la marca 3 de quesos

Como se puede apreciar en los siguientes gráficos (Figura 1, 2 y 3), los quesos correspondientes a las marcas 2 y 3 no cumplen con las especificaciones en este parámetro tras 3 días abierto el envase. En el caso de los quesos de la marca 2 (Figura 1), se observa que de 0 a 3 días abierto el envase existen 2 de 3 muestras que igualan o superan el límite máximo establecido. Lo mismo ocurre con los quesos de la marca 3 (Figura 2). Por tanto, las muestras de quesos de estas marcas se consideran no satisfactorias en relación a este parámetro tras tres días abierto el envase, indicando, por tanto, que la vida útil secundaria de estos quesos es menor de 3 días.

Por otro lado, en el caso de los quesos de la marca 1 (Figura 3) sí que se cumple con los criterios de aceptación hasta que transcurren los 5 días con el envase abierto. Pese a que se indica que se deben analizar 5 muestras y tan sólo se analizan 3, por medio de una relación proporcional se puede derivar que si en 5 muestras de estudio existen 2 que pueden igualar y/o superar el límite máximo, en 3 muestras de estudio puede existir 1 muestra que lo supere. Según esto, al cumplir 2 de 3 muestras con los rangos de aceptabilidad, se puede concluir que estas muestras son satisfactorias en relación a este parámetro. A partir de los 5 días con el envase abierto se aprecia en dicho gráfico una elevación de este parámetro, lo cual indica que su consumo a partir de esa fecha no es recomendable.

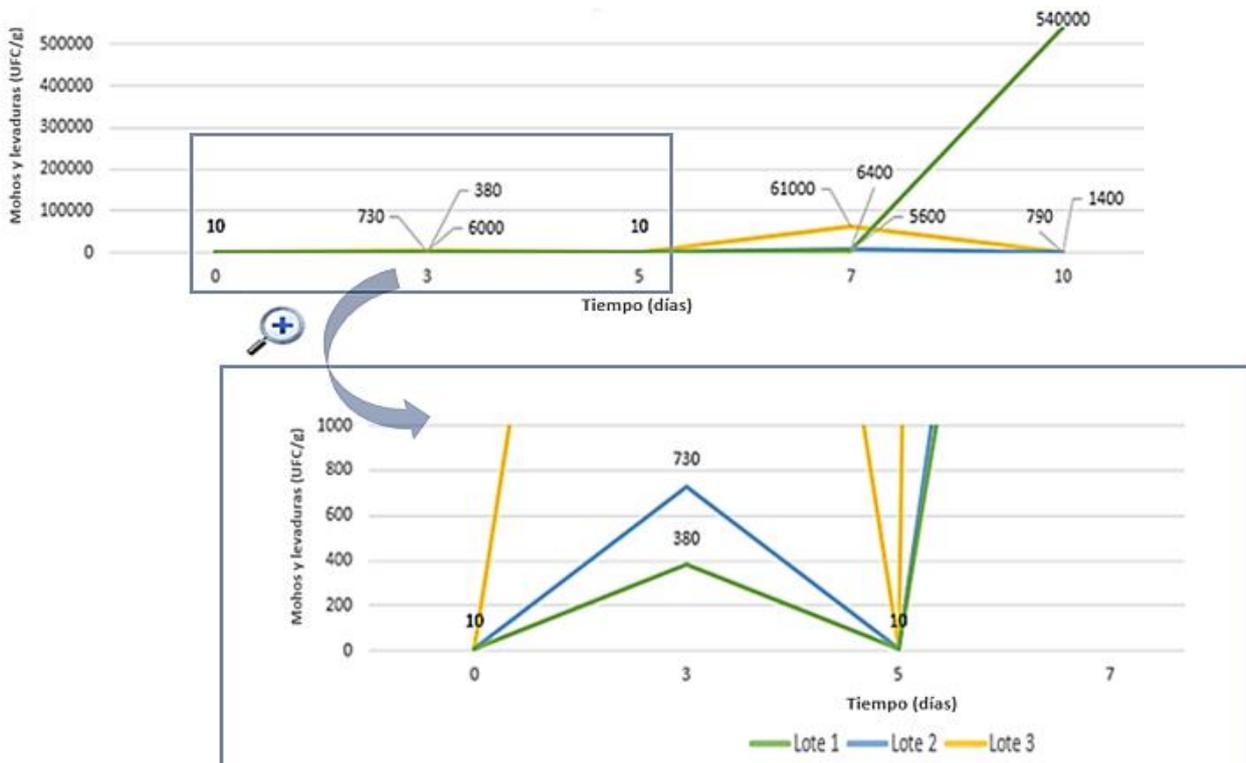


Figura 3. Recuento de mohos y levaduras totales en los tres lotes de estudio correspondientes a la marca 1 de quesos

4.2. Evolución de los parámetros físico-químicos durante el periodo de vida útil secundaria:

En relación a las determinaciones físico-químicas, para valorar si a lo largo del periodo de vida útil secundaria de los diferentes quesos se observan diferencias significativas en los valores de los parámetros físico-químicos seleccionados, se ha llevado a cabo un tratamiento estadístico de los datos. Más concretamente, se ha empleado el análisis de la varianza (ANOVA), prueba estadística que permite analizar si más de dos grupos difieren significativamente entre sí en relación a sus medias y varianzas.

La hipótesis nula de la que parte un ANOVA es que la media de la variable estudiada es la misma en los diferentes grupos, en contraposición a la hipótesis alternativa de que al menos dos medias difieren de forma significativa.

Para poder aplicar un ANOVA tienen que estar presentes una variable independiente de tipo categórica (en este caso es el tiempo, expresado en días, que lleva abierto el envase) y una variable dependiente con un nivel de medición (en este caso es el valor de cada uno de los parámetros físico-químicos a analizar). Además, se debe garantizar el cumplimiento de las condiciones necesarias para su aplicación como son la independencia y la distribución normal para cada uno de los grupos (diferentes días evaluados).

El funcionamiento básico de un ANOVA consiste en calcular la media de cada uno de los grupos (promedio de los parámetros físico-químicos de los 3 lotes diferentes que se evalúan cada día) para a continuación comparar la varianza de estas medias (intervarianza) frente a la varianza promedio dentro de los grupos (intravarianza). Para el análisis del ANOVA se utiliza el lenguaje estadístico R que proporciona un entorno diseñado especialmente para el tratamiento de datos, cálculo y análisis gráfico.

Por tanto, en primer lugar se verifica que se satisfacen las condiciones necesarias para el cálculo del ANOVA (se comprueba que cada parámetro físico-químico se distribuye de forma normal en cada uno de los grupos) y, después, se realiza el ANOVA para cada uno de los parámetros de las diferentes marcas (a excepción de la temperatura del refrigerador). En todos los casos, se obtiene un p-value superior a 0.05 por lo que no hay evidencias suficientes para considerar que al menos dos medias son distintas y, por tanto, las diferencias existentes entre los grupos no son significativas.

A continuación, se muestran los gráficos de evolución en el tiempo de la media de los distintos parámetros físico-químicos a analizar. En ellos se pueden observar las tendencias de la media y los diagramas de caja que ayudan a entender la dispersión de los datos.

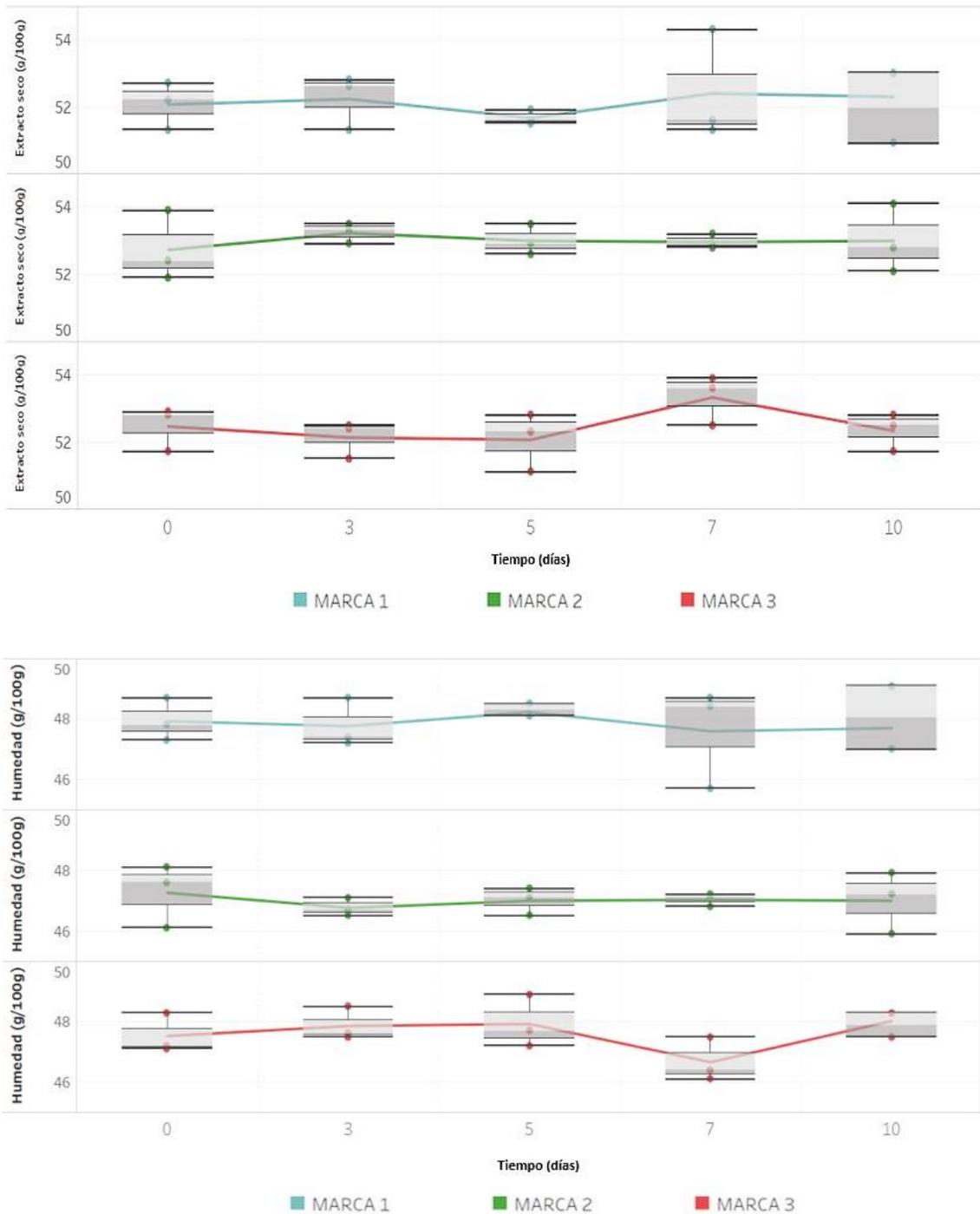


Figura 4. Evolución de la humedad y el extracto seco en las distintas muestras a lo largo de la vida útil secundaria

Como se puede apreciar en la Figura 4, cuando se produce un incremento de la humedad en las muestras, se produce un descenso del extracto seco por la relación existente entre estas dos variables ($\text{Humedad (\%)} = 100 - \text{Extracto seco (\%)}$).

La marca 2 de quesos es la que presenta menores oscilaciones en estos parámetros. Pese a que en las otras dos marcas objeto de estudio presentan pequeñas oscilaciones en estos parámetros, como ya se ha mencionado anteriormente, las diferencias existentes a lo largo del periodo de vida útil secundaria no son significativas ($p\text{-value} > 0,05$). Esto puede deberse a que todas estas muestras portaban envases recerrables, los cuales garantizan una mayor protección del producto. La marca 3, que es la que presenta mayores fluctuaciones en sus parámetros de humedad y extracto seco, era la que presentaba el sistema recerrable menos flexible y ésta puede ser la razón de las mayores oscilaciones.

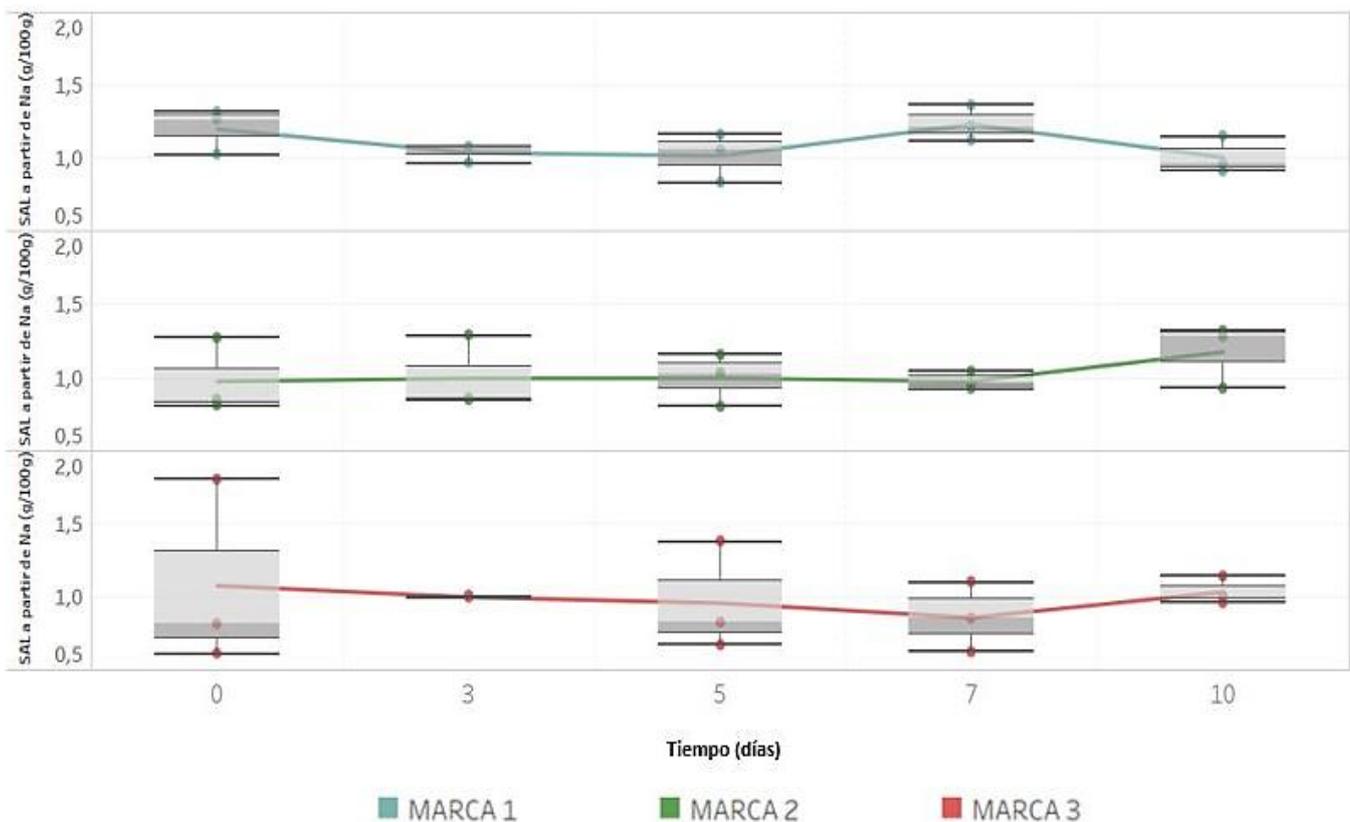


Figura 5. Evolución de la sal en las distintas muestras a lo largo de la vida útil secundaria

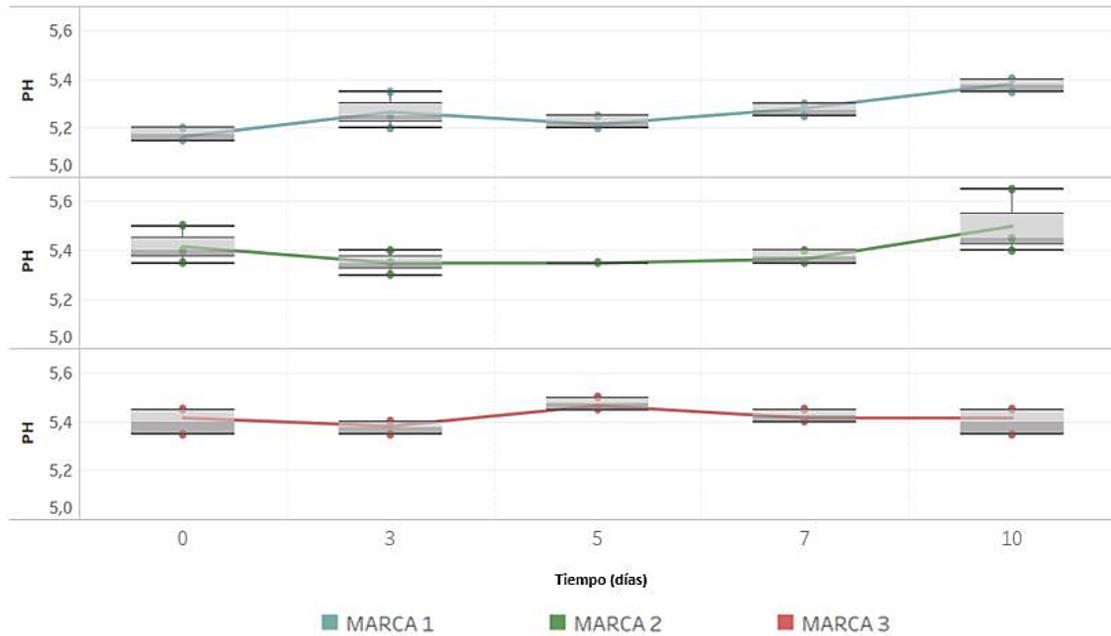


Figura 6. Evolución del pH en las distintas muestras a lo largo de la vida útil secundaria

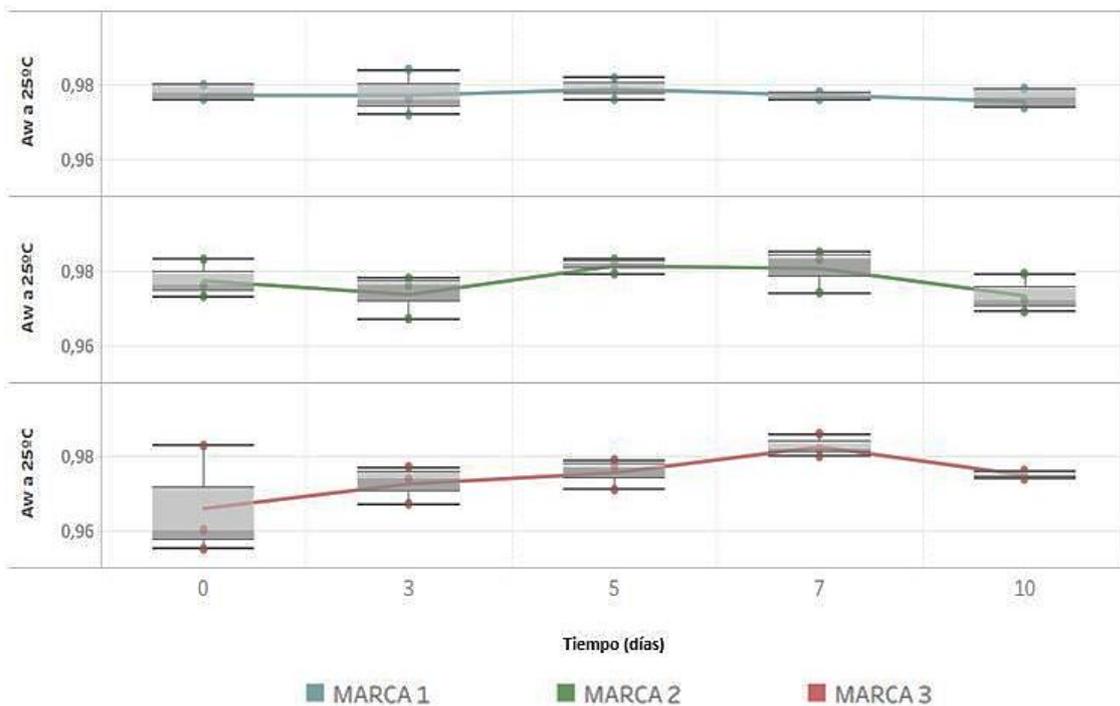


Figura 7. Evolución de la a_w en las distintas muestras a lo largo de la vida útil secundaria

Pese a que pueden apreciarse en estos gráficos ciertas fluctuaciones en los valores de los parámetros a lo largo de la vida útil, éstas no son significativas (p -value > 0,05). Por tanto, todas las muestras de las diferentes marcas cumplen todos los días de estudio con los estándares de calidad y seguridad en relación a los parámetros físico-químicos evaluados.

En relación al parámetro **temperatura del refrigerador**, éste se ha evaluado de la siguiente manera:

Como se muestra en la Figura 6, en cada día de estudio se representa el promedio de las temperaturas medidas cada hora, así como la temperatura máxima y mínima diaria de la nevera doméstica en la que se almacenaron las muestras. Tras realizar los promedios de temperatura de todos los días de estudio se muestra que la temperatura mínima promedio es de 1,23 °C, la temperatura máxima promedio es de 5,05 °C y la temperatura promedio general es de 2,66 °C. En base a los resultados expuestos, se garantiza que las muestras se han encontrado en condiciones de refrigeración durante los días de estudio ya que la temperatura de refrigeración se enmarca entre 2 y 8 °C aproximadamente. Sin embargo, como se puede apreciar en la Figura 8, las muestras han sufrido ciertas oscilaciones en su temperatura a lo largo del estudio, como por ejemplo el día 09/07/2018 con una temperatura máxima de 12,70 °C.

Esto ha podido influir negativamente en las muestras ya que las rupturas de la cadena del frío pueden ir acompañadas de ciertos procesos que deterioran la calidad de los productos.

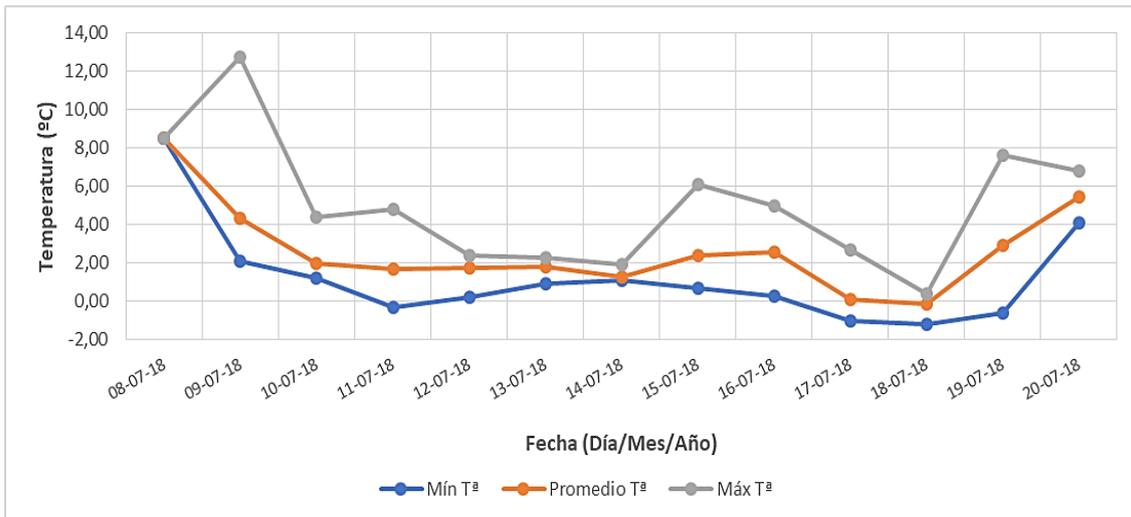


Figura 8. Representación de las temperaturas promedio diarias del refrigerador, así como de las temperaturas máximas y mínimas diarias

4.3. Análisis sensorial de los quesos a lo largo de la vida útil secundaria

Por medio del panel entrenado de catadores de la empresa de la marca 1 se realizaron las pruebas sensoriales descriptivas, en las que éstos evaluaron objetivamente y cuantitativamente la intensidad de los atributos sensoriales seleccionados. Éstos evaluaban dicha intensidad por medio del uso de escalas de intervalo, dotando a las muestras de valores del 1 al 10. Tras obtener dichos resultados, se realizaron los promedios de cada uno de los atributos por cada día de estudio. Con estos datos se elaboró un gráfico de tela de araña (Figura 7) en el que se puede apreciar la evolución temporal del perfil sensorial de las muestras de la marca 1 en los días de estudio.

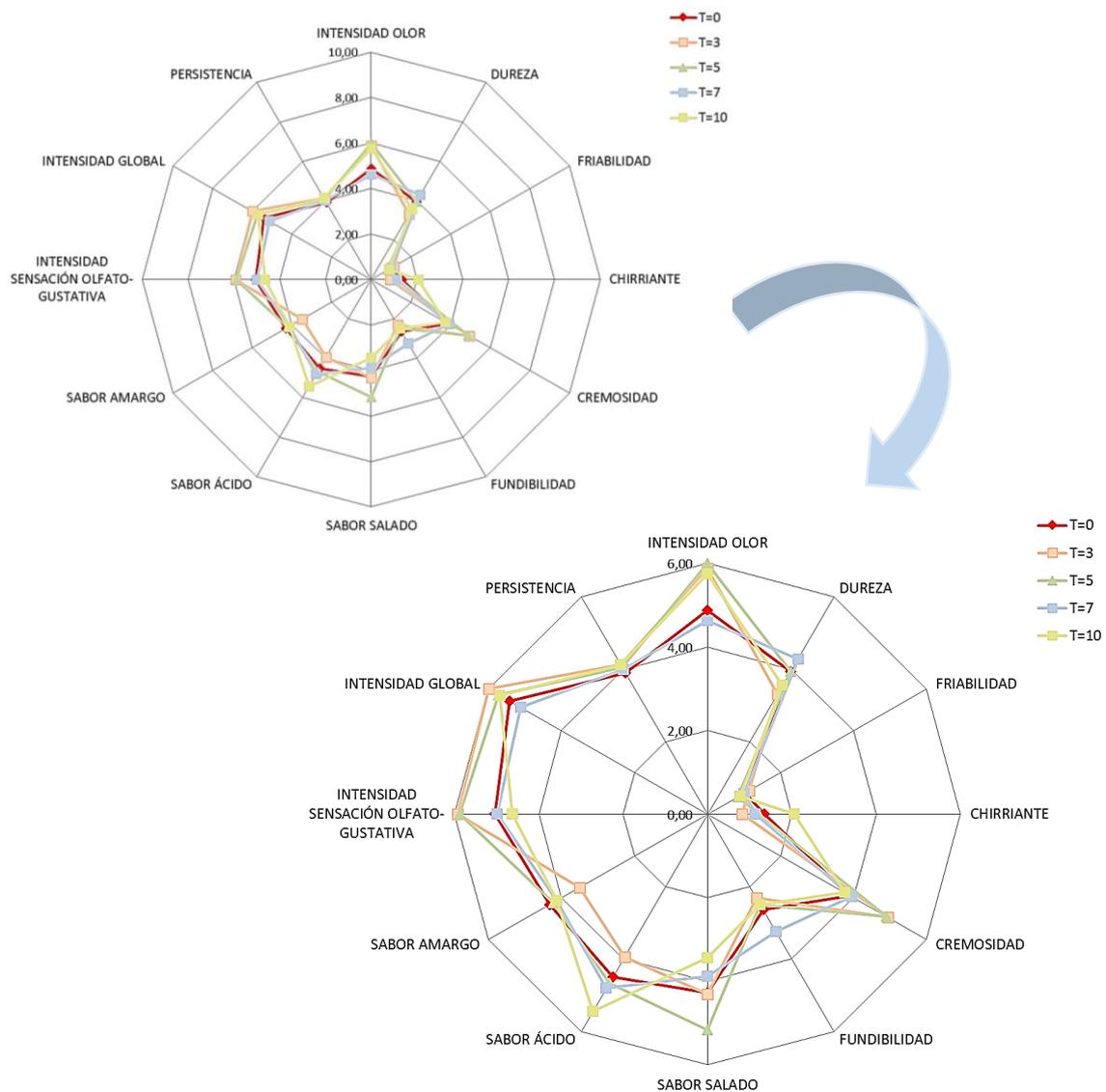


Figura 9. Comparativa del perfil sensorial de las muestras de la marca 1 en los diferentes días de estudio

Sin embargo, al analizar la Figura 7 se puede observar que aunque sí que existen diferencias en los atributos sensoriales seleccionados en base al tiempo que lleve abierto el envase, no se puede establecer a simple vista si estas diferencias son o no significativas. Por ello, para valorar este aspecto, al igual que en el análisis de los parámetros físico-químicos, se ha utilizado el análisis de varianza (ANOVA). Éste se puede aplicar ya que existe una variable independiente de tipo categórica (tiempo, expresado en días, que lleva abierto el envase) y una variable dependiente con un nivel de medición (intensidad de los distintos atributos sensoriales seleccionados).

En primer lugar se comprueba que cada atributo sensorial se distribuye de forma normal en cada uno de los grupos (días de análisis) y, después, se realiza el ANOVA para cada uno de atributos sensoriales. En todos los casos, se obtiene un p-value superior a 0.05 por lo que no hay evidencias suficientes para determinar que al menos dos medias son diferentes y, por tanto, las diferencias existentes en los atributos en los diferentes días de análisis no son significativas.

A continuación, se muestran los gráficos de evolución en el tiempo de la media de los distintos atributos sensoriales analizados. En ellos se puede observar la tendencia a la linealidad de la media, así como la dispersión de los datos por medio de los diagramas de caja.

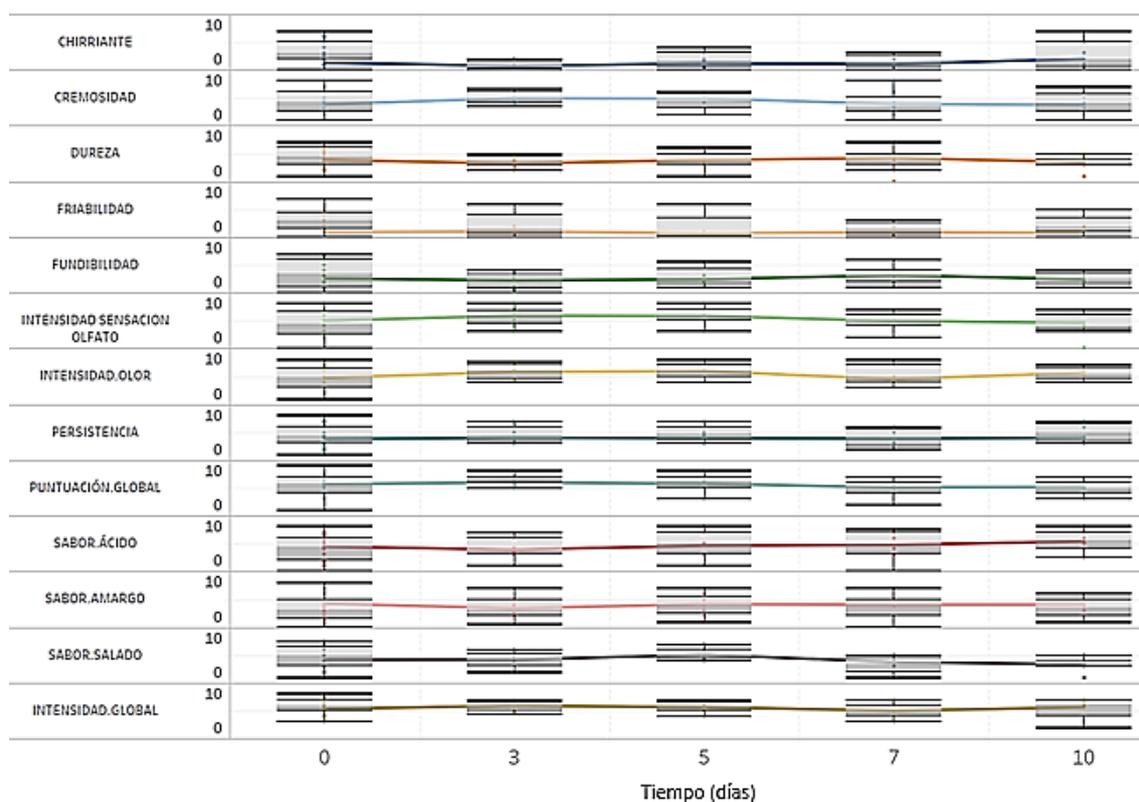


Figura 10. Evolución de la intensidad de los diferentes atributos sensoriales en los diferentes días de estudio de vida útil secundaria

Teniendo en cuenta que no existen diferencias significativas en la intensidad de los distintos atributos a lo largo de los días de estudio, se puede deducir que los quesos de la marca 1 preservan adecuadas características sensoriales durante los 10 primeros días de vida útil secundaria.

5. CONCLUSIONES

A pesar de que la vida útil secundaria no es uno de los criterios obligatorios a especificar en la etiqueta de los productos envasados, sí que sería útil su utilización para facilitar la conservación de aquellos productos que presentan unas características intrínsecas o extrínsecas que les condicionan una menor durabilidad, como es el caso de los quesos tiernos loncheados objeto de estudio.

Sin embargo, para poder especificar la vida útil secundaria de un producto se deben realizar estudios de la misma adaptados a cada tipo de alimento. Además, se debe verificar que los periodos y condiciones establecidas en el etiquetado son los adecuados mediante la aplicación de procedimientos de evaluación de la vida útil secundaria. Teniendo en cuenta que la vida útil de un alimento se define como el periodo de tiempo en el que, tras su producción o envasado, éste reúne unas adecuadas características físico-químicas, microbiológicas, sensoriales, nutricionales y de seguridad, el procedimiento de evaluación de la vida útil secundaria desarrollado tiene que tener en cuenta estos aspectos para que el producto reúna las especificaciones de calidad y seguridad.

Tras la aplicación del procedimiento y tras realizar las determinaciones analíticas descritas en el mismo se puede constatar que la vida útil secundaria especificada en la etiqueta de los quesos de la marca 1 es correcta, ya que durante los 5 días posteriores a la apertura del envase se cumplen todos los criterios especificados en el procedimiento desarrollado. Por otro lado, tras aplicar el procedimiento desarrollado en las muestras de las marcas 2 y 3, a pesar de que no indican la vida útil secundaria en la etiqueta, se puede estimar que su vida útil secundaria es menor de 3 días. Esto se debe a que al realizar el recuento de mohos y levaduras totales en dichas muestras se observaron valores superiores a los límites máximos permitidos tras los 3 días de apertura del envase.



6. AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradecer a mis tutores de universidad y de empresa, Daniel Sancho y Elena Rodríguez, por la ayuda y dedicación para sacar este trabajo fin de máster adelante.

Por otro lado, agradecer también a la empresa en la que he realizado este proyecto el haberme permitido desarrollar y aplicar este estudio, así como a los integrantes del departamento de Calidad de la misma por la ayuda brindada.

De la misma manera, a mis padres, hermanas y familia en general por ese apoyo emocional transmitido, así como a todos mis compañeros de clase y amigos en general por poder contar siempre con vuestro apoyo y por poner ese punto de diversión en los momentos más difíciles.

Por último agradecer a todos aquellos profesores que a lo largo del máster me han ayudado con su experiencia y formación.

7. BIBLIOGRAFÍA

Código Alimentario Español (Decreto 2484-1967, 21 de Septiembre). vLex, 1967. (Disponible en: <https://legislacion.vlex.es/vid/decreto-aprueba-texto-codigo-alimentario-204508137> Consultado el 3 de septiembre de 2018).

Daroz, M.J. (2016). Evaluación de la vida útil primaria y secundaria de paté de salmón y algas. Trabajo fin de máster: Universidad Politécnica de Valencia.

Etiquetado alimentario. Programa de información a los consumidores.Facua.org.,2015. (Disponible en: https://www.facua.org/es/documentos/informe_etiquetado.pdf Consultado el 3 de septiembre de 2018).

Fox, P., McSweeney, P., Cogan, T., Timothy, G. (2004). Cheese : chemistry, physics, and microbiology. Ed Elsevier.

García, B. (2006). Caracterización físico-química de diversos tipos de quesos elaborados en el valle de tulancingo hgo con el fin de proponer normas de calidad. Tesis: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo



García, E., Gago, L., Fernández, J.L. (2006). Tecnologías de envasado en atmósfera protectora. Madridmasd.org. (Disponible en: https://www.madrimasd.org/informacionidi/biblioteca/publicacion/doc/vt/vt3_tecnologias_de_envasado_en_atmosfera_protectora.pdf Consultado el 3 de septiembre de 2018).

Gastalver, M.C. (2015). Maduración y envasado de quesos. Ed Elearning.

López, A.L., Ruz, J.M., Barriga, D. (2015). Determinaciones analíticas en queso. (Disponible en: <https://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/ifapa/-/action/90004fc0-93fe-11df-8d8b-f26108bf46ad/e5747030-1bb8-11df-b7e2-35c8dbbe5a83/es/02f9e190-faff-11e0-929f-f77205134944/alfrescoDocument?i3pn=contenidoAlf&i3pt=S&i3l=es&i3d=e5747030-1bb8-11df-b7e2-35c8dbbe5a83&contentId=bd02e1c9-b6f0-4a9e-808e-70767d4d970a>. Consultado el 3 de septiembre de 2018).

Martín, M.J. (2013). Aptitud de distintos sistemas de conservación para la prolongación de la vida útil de carne fresca de cerdo ibérico para el consumo directo y de productos derivados. Tesis: Universidad de Extremadura.

Medidas de Prevención y Control en los Establecimientos Alimentarios. Colvema.org., 2015. (Disponible en: <https://www.colvema.org/pdf/LISTERIA.pdf>. Consultado el 3 de septiembre de 2018).

Palacios, S. (2006). Caracterización microbiológica de diversos tipos de quesos elaborados en el valle de Tulancingo Hidalgo. Tesis: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Real Decreto 1113/2006, de 29 de septiembre, por el que se aprueban las normas de calidad para quesos y quesos fundidos. EUR-lex, 2006. (Disponible en: <https://www.boe.es/boe/dias/2006/10/06/pdfs/A34717-34720.pdf> Consultado el 3 de septiembre de 2018).

Reglamento (CE) nº 2073/2005 de la Comisión de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. EUR-lex, 2005. (Disponible en: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=celex%3A32005R2073> Consultado el 3 de septiembre de 2018).



Reglamento (UE) nº 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo de 25 de Octubre de 2011 sobre la información alimentaria facilitada al consumidor. Boe.es., 2011. (*Disponible en: <https://www.boe.es/doue/2011/304/L00018-00063.pdf> Consultado el 3 de septiembre de 2018*).

Rodríguez, J.M. (2006). Consecuencias higiénicas de la alteración de los alimentos. Tesis: Universidad Complutense de Madrid.

Segundo, J. (2008). Correlación entre bacterias psicrófilas, psicrótrofas y coliformes totales en leche semi-descremada y chocolatada de la planta de lácteos Zamorano. Universidad de Honduras.

Valencia, F.E., Millán, L. de J., Jaramillo, Y. 2008. Estimación de la vida útil fisicoquímica, sensorial e instrumental de queso crema bajo en calorías. Rev. Lasallista Investig. 5. Nr.1., 28-33.