



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA
AGROINDUSTRIAL**

**INOCUIDAD Y VIDA DE ANAQUEL
DEL QUESILLO DE REYES, ETLA, OAXACA**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA**

PRESENTA:

LAURA MARTIN MÁRQUEZ ROA



**DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES**

DICIEMBRE, 2015

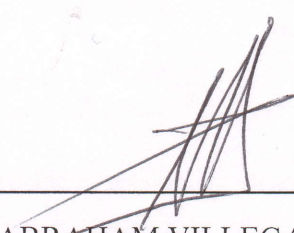
Chapingo, Estado de México

**INOCUIDAD Y VIDA DE ANAQUEL DEL QUESILLO DE REYES,
ETLA, OAXACA**

Tesis realizada por **Laura Martín Márquez Roa** bajo la dirección del Comité asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

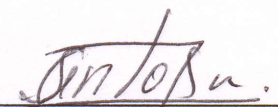
**MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
AGROALIMENTARIA**

DIRECTOR:



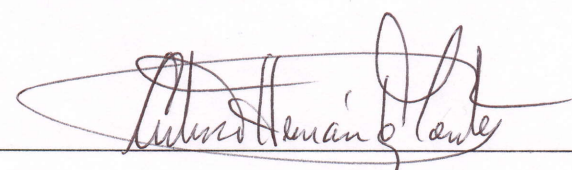
M. C. ABRAHAM VILLEGAS DE GANTE

ASESOR:



M. C. ARMANDO SANTOS MORENO

ASESOR:



DR. ARTURO HERNÁNDEZ MONTES

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, a la Universidad Autónoma Chapingo y al Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria por el financiamiento de mis estudios y por darme la oportunidad de vivir y aprender de esta gran experiencia.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECyT) por el apoyo económico otorgado para este trabajo de investigación.

Al Maestro Abraham Villegas de Gante, por su invaluable aportación de conocimientos durante la dirección y realización de esta tesis, por la confianza brindada, así como por sus amenas y formadoras charlas.

Al Dr. Arturo Hernández Montes, por su invaluable asesoría y apoyo.

Al M.C. Armando Santos Moreno, por su orientación y comprensión.

Al Q.F.B. Adalberto Gómez Cruz, por su constante asesoría y apoyo para la realización de los análisis microbiológicos.

Al M. C. Salvador Martínez Romero, por su asesoría y por el acceso al equipo que facilitó la realización de los análisis microbiológicos.

A los ganaderos y maestros queseros pertenecientes a la Unión de Productores Auténticos de Queso y Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca que permitieron realizar esta investigación. Especialmente a la Sra. Eva y a la Sra. Alma Delia por la disponibilidad para realizar este estudio, por compartir todo ese conocimiento y el orgullo que el ser maestra quesera conlleva, pero más aún por brindarme la confianza y el apoyo que me hizo sentir como en casa.

Al grupo focal integrado por Yessenia, Karina, Fabian, Julia, Olivia, Ma. Luisa, Claudia, Dulce y Nadia.

A los integrantes del panel sensorial: Betzaida, Carla, Dulce, Esau, Laura, Magdiel, Miriam, Rolando, y Vicente por su participación en la evaluación del Quesillo.

A Eduardo, Mauricio, Guillermo, Ricardo, Nydia, Magnolia, Néstor y Angy por su amistad y su valioso apoyo durante la fase de laboratorio.

A Esperanza (Perita) por ser de gran apoyo para todos los estudiantes de la MCyTA.

DEDICATORIAS

A mi nueva familia, mi esposo Filiberto y mi hijo Isaac, por ustedes he comprendido que nunca estaré sola, gracias por su amor, su apoyo y paciencia; porque no me dejan rendir y por recordarme cada día que mis metas son suyas también.

A Margarita Santos e Hilario Yescas por todo el apoyo brindado, muy especialmente por el cuidado de Isaac, siendo amorosos abuelos y una excelente guía.

A mis papás, Enedina Roa y Humberto Márquez, por todo su amor y por su ejemplo que me enseñó que la ética, el trabajo y la constancia son la base para lograr las metas.

A mis abuelos, Herón Márquez y Máximo Roa, y abuelas, Esperanza Álvarez y Enriqueta Román, por la experiencia de vida.

A mis hermanas, Yessenia, Karina, Alejanda, y especialmente a Liliana por todos sus consejos y su guía.

A mis sobrinos y sobrinas que cada día nos enseñan algo y nos regalan amor incondicional.

A mis amigos y amigas, especialmente a Juanita y a la Dra. Evelin, las quiero sin importar el tiempo y la distancia.

Y a todos aquellos que han sido parte de mi vida, porque su existencia me ha formado y enseñado acerca de las cosas importantes, sobre las batallas que debemos luchar y sobre aquellas que no vale la pena pelear.

DATOS BIOGRÁFICOS

Laura Martín Márquez Roa nació en San Martín de las Pirámides, Estado de México. Estudio la Licenciatura en Ingeniería Agroindustrial en la Universidad Autónoma Chapingo. Ha trabajado en el área de sanidad vegetal desempeñándose como Auxiliar de Inspección Fitozoosanitaria Acuícola y Pesquera para IICA/SENASICA. Ha laborado como Profesional en Sistemas de Reducción de Riesgos de Contaminación, siendo autorizada por SENASICA para dicho propósito. Se ha desempeñado laboralmente en el área de inocuidad en el área de producción primaria y empaque de vegetales, específicamente en aguacate y hortalizas, cuya función ha sido dar asesoría técnica para en el reconocimiento de unidades de producción bajo los Sistemas de Reducción de Riesgos de contaminación. Participó como ponente en el IV Congreso Internacional y XV Congreso Nacional de Investigación Socioeconómica y Ambiental de la Producción Pecuaria, y en el III Congreso internacional y XVII Congreso Nacional de Ciencias Agronómicas.

INOCUIDAD Y VIDA DE ANAQUEL DEL QUESILLO DE REYES, ETLA, OAXACA

SAFETY AND SHELF LIFE OF QUESILLO CHEESE FROM REYES, ETLA, OAXACA

Márquez Roa Laura Martin¹, Villegas de Gante Abraham²

RESUMEN

El Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, posee características sensoriales y de tipicidad que lo diferencian del producido en el resto del país. Esto se corroboró mediante el estudio del sistema agroindustrial (SAI) leche – Quesillo. La leche de proceso no presentó diferencias estadísticas en la composición ni en la calidad microbiológica. Ésta presentó una adecuada calidad composicional, pero también una alta carga de microorganismos. En el Quesillo se evaluó su inocuidad, el tratamiento térmico que se da a la masa quesera, y las propiedades fisicoquímicas del producto durante dos épocas del año. Para esto se seleccionaron dos queserías, mediante muestreo dirigido. El contenido de sal, de calcio y de cenizas; así como la firmeza, el color (tono y pureza), el pH y la actividad de agua tuvieron diferencia estadística en el Quesillo. El tratamiento térmico redujo la población de bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales, y de mohos y levaduras en 1.7, 3.05 y 2.61 $\log_{10}$ ufc·g⁻¹, respectivamente. No obstante, tanto el nivel de población de estos microorganismos como la presencia *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y de *Salmonella* spp. estuvieron por arriba del límite establecido por la NOM-243-SSA1-2010. La vida de anaquel del Quesillo se evaluó manteniéndolo en cadena de frío, en dos queserías, en la época de secas (2015). Se determinó un período de 12 días como fecha de consumo preferente, esto obtenido mediante el análisis de supervivencia. La disminución estadísticamente significativa en la aceptabilidad global no se relacionó directamente con la probabilidad de rechazo del consumo. Los consumidores penalizaron la disminución de la hebrasidad, la presencia de textura demasiado masosa, la poca humedad, el desarrollo de sabor demasiado amargo, un alto contenido de sal y la presencia de color demasiado amarillo.

Palabras clave: calidad microbiológica, tratamiento térmico, leche cruda, análisis de supervivencia.

ABSTRACT

Quesillo cheese from Reyes, Etlá, Oaxaca, has sensory and typicity characteristics that differentiate it from Oaxaca cheese produced elsewhere in Mexico. This was confirmed by conducting a study of the milk-Quesillo cheese agroindustrial system. The milk used in the process showed no statistical differences in composition or microbiological quality. Suitable compositional quality and elevated total mesophilic count in raw milk were presented. Safety, heat treatment during the kneading in hot water, and physicochemical properties were evaluated in two seasons. Dairies were selected throughout directed sampling. Salt, calcium and ash content, firmness, and color (tone angle and purity), pH and water activity were significantly different in Quesillo cheese. Heat treatment decreased the population of aerobic mesophilic bacteria, total coliforms, and yeast and mold by 1.7, 3.05, and 2.61 $\log_{10}$ ufc·g⁻¹, respectively. However, these population levels and *E. coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. presence were above the limit established by the NOM-243-SSA1-2010. Shelf life of Quesillo cheese was assessed by preserving it in a cold chain, in two dairies in the 2015 dry season. The best before date was established as 12 days by survival analysis. A significant decrease in overall acceptability was not directly related to the probability of product consumption being rejected. Consumers penalized the threadness decrease, excessively soft texture, low moisture, an overly bitter taste, a high salt content and an overly yellow color.

Key word: microbiological quality, heat treatment, raw milk, survival analysis.

¹ Tesista

² Director

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIAS.....	iv
DATOS BIOGRÁFICOS.....	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT.....	vi
LISTA DE CUADROS.....	xii
LISTA DE FIGURAS.....	xv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Objetivos.....	5
1.1.1 Objetivo general.....	5
1.1.2 Objetivos particulares.....	5
1.2. Hipótesis.....	5
2. MARCO DE REFERENCIA.....	6
2.1. Situación mundial de la producción de leche de vaca.....	6
2.2. Situación de la producción de leche de vaca en México.....	8
2.3. Sistemas de producción de leche en México.....	10
2.4. Situación de la quesería nacional.....	11
2.5. Quesos de pasta filata.....	12
2.6. Quesos mexicanos genuinos	15
2.7. Quesillo	16
2.8. Inocuidad de los quesos de leche cruda	16
2.9. Vida de anaquel.....	23
2.10. Ubicación del área de estudio.....	26
2.11. El sistema agroindustrial	27
3. BIBLIOGRAFÍA.....	31
CAPITULO 1. EL SISTEMA AGROINDUSTRIAL LECHE – QUESILLO DE REYES, ETLA, OAXACA.....	37

RESUMEN.....	38
ABSTRACT.....	38
1. INTRODUCCIÓN.....	39
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	42
2.1. Metodología del estudio del sistema agroindustrial (SAI)...	42
2.2. Características de la leche usada para la elaboración del queso.....	43
2.3. Proceso tecnológico.....	44
2.4. Análisis estadístico.....	44
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	45
3.1 Historia.....	45
3.2. El Sistema Agroindustrial Leche-Quesillo.....	45
3.2.1. Eslabón primario: Los productores de leche.....	49
3.2.2. La actividad quesera.....	51
3.2.3. Comercialización.....	55
3.3. Análisis del sistema agroindustrial.....	56
3.3.1. Grado de tecnificación	56
3.3.2. Acceso a paquetes tecnológicos.	58
3.4. La genuinidad y la tipicidad del Quesillo de Reyes, Etlá.....	60
3.5. Significado del Quesillo para los queseros.....	66
3.6. Elementos para un análisis FODA.....	67
Fortalezas.....	67
Oportunidades.....	68
Debilidades.....	68
Amenazas.....	69
Estrategias.....	70
3.7. Calidad de la leche en quesería	71
3.8. Proceso de elaboración del Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxca .	75
3.9. Proceso de fabricación en varias queserías.....	87
4. CONCLUSIONES.....	89
5. BIBLIOGRAFÍA.....	92
CAPÍTULO 2. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS E INOCUIDAD DEL QUESILLO DE REYES, ETLA, OAXACA.....	94

RESUMEN.....	95
ABSTRACT.....	95
1. INTRODUCCIÓN.....	96
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	98
2.1. Plan de muestreo.....	98
2.2. Toma de muestras.....	100
2.3. Evaluación del tratamiento térmico.....	101
2.4. Análisis químico proximal.....	101
2.5. Análisis de Perfil de Textura.....	102
2.6. Medición de color.....	103
2.7. Análisis microbiológico.....	103
2.8. Análisis estadístico.....	107
3. RESULTADOS.....	109
3.1. Tratamiento térmico a la masa quesera.....	109
3.2. Análisis químico proximal.....	117
3.3. Análisis de Perfil de Textura.....	121
3.4. Medición de color.....	123
3.5. a_w y pH.....	125
3.6. Análisis microbiológico.....	128
3.7. Interpretación de resultados según el plan de muestreo.....	135
3.7.1. Bacterias mesófilas aerobias.....	135
3.7.2. Bacterias coliformes totales.....	136
3.7.3. Mohos levaduras.....	138
3.7.4. <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positiva.....	142
3.7.5. <i>Escherichia coli</i> (presuntiva)	147
3.7.6. <i>Salmonella</i> spp.	150
3.8. Implicaciones socio-técnicas de la inocuidad.....	155
4. CONCLUSIONES.....	161
Recomendaciones.....	163
5. BIBLIOGRAFÍA.....	165
CAPITULO 3. DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL DEL QUESILLO DE REYES, ETLA OAXACA.....	173

RESUMEN	174
ABSTRACT	174
1. INTRODUCCIÓN.....	175
2. MATERIALES Y MÉTODOS	178
2.1. Plan de muestreo	178
2.2. Análisis de supervivencia	178
2.3. Análisis fisicoquímico instrumental y textura sensorial (hebrasidad)	179
2.3.1. Análisis fisicoquímico instrumental.....	179
2.3.2. Análisis sensorial de la intensidad de la hebrasidad.....	179
2.4. Pruebas de aceptación por consumidores	180
2.5. Análisis de penalización del promedio de la aceptabilidad global	181
2.6. Análisis estadístico	182
2.6.1. Análisis de supervivencia	182
2.6.2 Análisis fisicoquímico instrumental y textura sensorial (hebrasidad)	183
2.6.3. Pruebas de aceptación por consumidores	184
2.6.4. Análisis de penalización del promedio de la aceptabilidad global	184
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	185
3.1. Análisis de supervivencia	185
3.2. Análisis fisicoquímico instrumental y textura sensorial (hebrasidad)	189
3.2.1. Análisis fisicoquímico instrumental	189
3.2.2. Análisis sensorial de la intensidad de la hebrasidad	193
3.3. Pruebas de aceptación por consumidores	197
3.3.1. Resultados de las pruebas de aceptabilidad global y por atributos	198
3.4. Análisis de penalización del promedio de la aceptabilidad global.....	203
4. CONCLUSIONES	214
5. BIBLIOGRAFÍA	216
ANEXOS	219

Anexo 1	219
Anexo 2	220
Anexo 3	224

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Presencia de microbiota patógena (<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella spp.</i> y <i>Listeria monocytogenes</i>) en muestras de quesos mexicanos tradicionales.....	22
CAPITULO 1. EL SISTEMA AGROINDUSTRIAL LECHE – QUESILLO DE REYES, ETLA, OAXACA.....	37
Cuadro 1. Principales características de las unidades de producción lechera en Reyes, Etlá, Oaxaca (n = 6; promedio ± desviación estándar).....	49
Cuadro 2. Características de la producción de Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca (n = 8; promedio ± desviación estándar).	52
Cuadro 3. Características relevantes sobre la mano de obra en las queserías de Quesillo en Reyes, Etlá, Oaxaca (n = 8; promedio ± desviación estándar).....	54
Cuadro 4. Características relevantes de la comercialización del Quesillo en Reyes, Etlá, Oaxaca (n = 8; promedio ± desviación estándar).....	55
Cuadro 5. Composición de leche cruda* para la elaboración de Quesillo de Reyes, Etlá por quesería y temporada (promedio ± desviación estándar).....	72
Cuadro 6. Cuenta de bacterias mesófilas aerobias ($\log_{10}$ ufc $\cdot$ mL ⁻¹) encontradas en leche cruda utilizada para la elaboración de Quesillo (media ± desviación estándar).....	74
Cuadro 7. Parámetros dentro del proceso de elaboración de Quesillo en distintas queserías de Reyes, Etlá.....	88
CAPÍTULO 2. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS E INOCUIDAD DEL QUESILLO DE REYES, ETLA, OAXACA.....	94
Cuadro 1. Criterios microbiológicos para quesos europeos hechos con leche cruda y tratados por calor (Directiva europea 92/46 EEC).....	99
Cuadro 2. Tiempo de sostenimiento y temperatura alcanzada durante el amasado (por quesería y época del año) (promedio ± desviación estándar)...	113
Cuadro 3. Valores de inactivación térmica para <i>E. coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella spp.</i> y <i>S. Typhimurium</i> en diferentes medios de calentamiento.....	116
Cuadro 4. Composición proximal del Quesillo (por quesería y época del año) (promedio ± desviación estándar).....	117
Cuadro 5. Composición de Quesillo, queso Oaxaca e imitación de queso Oaxaca de diferentes marcas y regiones de México (promedio ± desviación estándar)	120

Cuadro 6. Análisis de perfil de textura del Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca procedente de dos queserías (A y B) y temporadas (lluvias y secas) (promedio $\pm$ desviación estándar)	122
Cuadro 7. Valores de luminosidad, ángulo de tono ¹ y pureza del Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca procedente de dos queserías (A y B) y temporadas (lluvias y secas) (promedio $\pm$ desviación estándar).....	124
Cuadro 8. Valores de a_w de la cuajada y del Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca procedente de dos queserías (A y B) y temporadas (lluvias y secas) (promedio $\pm$ desviación estándar).....	125
Cuadro 9. Valores de pH de la cuajada fermentada y del Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca procedente de dos queserías (A y B) y temporadas (lluvias y secas) (promedio $\pm$ desviación estándar)	127
Cuadro 10. Valores de pH, a_w y temperatura de crecimiento de <i>Salmonella</i> spp., <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>	128
Cuadro 11. Efecto del tratamiento térmico, de la quesería y la temporada en la cuenta de bacterias mesófilas aerobias ($\log_{10}$ ufc $\cdot$ g ⁻¹) en Quesillo de Reyes Etla, Oaxaca (promedio $\pm$ desviación estándar).....	129
Cuadro 12. Efecto del tratamiento térmico, de la quesería y la temporada en la cuenta de bacterias coliformes totales ($\log_{10}$ ufc $\cdot$ g ⁻¹) en Quesillo de Reyes Etla, Oaxaca (promedio $\pm$ desviación estándar).....	130
Cuadro 13. Efecto del tratamiento térmico, de la quesería y la temporada en la cuenta de mohos y levaduras ($\log_{10}$ ufc $\cdot$ g ⁻¹) en Quesillo de Reyes Etla, Oaxaca (promedio $\pm$ desviación estándar)	131
Cuadro 14. Cuenta de <i>E. coli</i> (presuntiva) ($\log_{10}$ NMP $\cdot$ g ⁻¹) encontradas en cuajada fermentada y en Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca procedente de dos queserías (A y B) y temporadas (lluvias y secas)	133
Cuadro 15. Efecto del tratamiento térmico, de la quesería y la temporada en la cuenta de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positiva ($\log_{10}$ ufc $\cdot$ g ⁻¹) en Quesillo de Reyes Etla, Oaxaca (promedio $\pm$ desviación estándar).....	134
Cuadro 16. Numero de muestras positivas a <i>Salmonella</i> spp. en cuajada fermentada (n=5) y en Quesillo (n=5) de Reyes, Etla, Oaxaca, procedente de dos queserías (A y B) y temporadas (lluvias y secas).	134
Cuadro 17. Cuenta de bacterias mesófilas aerobias ($\log_{10}$ ufc $\cdot$ g ⁻¹) en muestras de Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca, de dos queserías (A y B) y dos temporadas (lluvias y secas).	136
Cuadro 18. Cuenta de bacterias coliformes totales ($\log_{10}$ ufc $\cdot$ g ⁻¹) en muestras de Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca procedente de dos queserías (A y B) y dos temporadas (lluvias y secas).	138
Cuadro 19. Cuenta de mohos y levaduras ($\log_{10}$ ufc $\cdot$ g ⁻¹) en muestras de Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca procedente de dos queserías (A y B) y temporadas (lluvias y secas).	139

Cuadro 20. Cuenta de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positivo ($\log_{10}$ ufc·g ⁻¹) en Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca procedente de dos queserías (A y B) y temporadas (lluvias y secas).	143
Cuadro 21. Cuenta de <i>E. coli</i> (presuntiva) ($\log_{10}$ NMP·g ⁻¹ en Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, procedente de dos queserías (A y B) y temporadas (lluvias y secas).	148
CAPITULO 3. DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL DEL QUESILLO DE REYES, ETlá OAXACA.....	173
Cuadro 1. Datos de aceptación / rechazo de ocho sujetos quienes probaron muestras de Quesillo con diferentes tiempos de almacenamiento a 4 °C.....	186
Cuadro 2. Valores Anderson-Darling de siete modelos de distribución para datos censurados de aceptación/rechazo del Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, proveniente de las queserías A y B, mantenido a 4 °C durante el almacenamiento.....	186
Cuadro 3. Parámetros estimados y mediana de la distribución Weibull para los datos censurados de aceptación/rechazo del Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, mantenido a 4 °C durante su almacenamiento, proveniente de la quesería A y B.....	187
Cuadro 4. Variación de la composición química básica, pH, color instrumental y hebrasidad de Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, mantenido a 4 °C, de la quesería A y B durante el periodo de almacenamiento evaluado (promedio ± desviación estándar).....	190
Cuadro 5. Descripción del atributo sensorial “hebrasidad” y referencias para la evaluación de Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca	194
Cuadro 6. Variación de la hebrasidad de Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, mantenido a 4 °C, de la quesería A y B durante el periodo de almacenamiento evaluado (promedio ± desviación estándar).....	196
Cuadro 7. Descriptores sensoriales para la evaluación de la aceptabilidad por atributos del Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, obtenidos de un grupo focal.	198
Cuadro 8. Valores de la aceptabilidad global y por atributos de Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, mantenido a 4 °C, de las queserías A y B, durante el tiempo de almacenamiento (promedio ± desviación estándar).....	200

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principales regiones productoras de leche de vaca en el mundo para el año 2014.	7
Figura 2. Principales países productores de leche de vaca a nivel mundial en el año 2012.	8
Figura 3. Localización del distrito de Etla en la Región de Valles Centrales y dentro de Oaxaca.	27
CAPITULO 1. EL SISTEMA AGROINDUSTRIAL LECHE – QUESILLO DE REYES, ETLA, OAXACA.....	37
Figura 1. Representación del sistema agroindustrial leche-Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca.....	48
Figura 2. Establos productores de leche en Reyes, Etla, Oaxaca.....	50
Figura 3. Diagrama de bloques del proceso general promedio de elaboración del Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca.....	76
Figura 4. Recepción y colado de la leche para la elaboración de Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca.	77
Figura 5. Cuajada fermentada “esponjosa”, con presencia de agujeros de gran tamaño que pueden asociarse con la formación de gas por levaduras.....	81
Figura 6. Desmoronado de la cuajada fermentada, trabajo en agua caliente y estirado durante la prueba de hebra para detectar el “punto”	82
Figura 7. Proceso de amasado (majado) de la pasta con pala de madera con cambio de agua caliente durante la elaboración de Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca.	84
Figura 8. Estirado de la masa quesera después del proceso de amasado en la elaboración de Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca.	85
Figura 9. Salado y enredado de la hebra para la formación de las madejas de Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca.	85
Figura 10. Piezas de Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca recién elaboradas.....	86
Figura 11. Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca exhibido para su venta durante la Expo-Feria del Queso y el Quesillo en Reyes, Etla, Oaxaca.....	87

CAPÍTULO 2. CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS E INOCUIDAD DEL QUESILLO DE REYES, ETLA, OAXACA.....	94
Figura 1. Tratamiento térmico sin cambio (Δ) y con un cambio de agua caliente ($\square$) que se da a la pasta quesera durante el amasado para la elaboración de Quesillo.....	112
CAPITULO 3. DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL DEL QUESILLO DE REYES, ETLA OAXACA.....	173
Figura 1. Probabilidad de aceptación del consumo de Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, mantenido a 4 °C, de la quesería A (a) y B (b) durante un periodo de almacenamiento, con límite superior e inferior.....	188
Figura 2. Biplot de calificaciones y cargas de las variables fisicoquímicas de Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca de la quesería A (a) y B (b), con diferentes días de almacenamiento en el plano definido por los componentes 1 y 2.....	192
Figura 3. Variación del pH, de la intensidad de la hebrasidad y la aceptabilidad de la hebrasidad del Quesillo a través del tiempo de almacenamiento en la quesería A (a) y B (b).....	195
Figura 4. Mapa de preferencia externo de las muestras de Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, almacenado a 4 °C, obtenido de la quesería A, donde se muestran las calificaciones (muestras y cargas) de los días de almacenamiento respecto a las variables de la aceptabilidad por atributos.....	201
Figura 5. Mapa de preferencia externo de las muestras de Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, almacenado a 4 °C, obtenido de la quesería B, donde se muestran las calificaciones (muestras y cargas) de los días de almacenamiento respecto a las variables de la aceptabilidad por atributos.....	202
Figura 6. Mapa de análisis de penalización de la aceptabilidad global debida a los atributos de aroma, olor, color amarillo, adhesividad al tacto, humedad al tacto, hebrasidad, textura masosa, sabor amargo, y contenido de sal, en el Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca de la quesería A (a) y B (b) con 2 días de almacenamiento. El asterisco (*) indica diferencia entre el nivel obtenido y el esperado.....	205
Figura 7. Mapa de análisis de penalización de la aceptabilidad global debida a los atributos de aroma, olor, color amarillo, adhesividad al tacto, humedad al tacto, hebrasidad, textura masosa, sabor amargo, y contenido de sal, en el Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca de la quesería A (a), con 11 días de almacenamiento, y B (b), con 8 días de almacenamiento. El asterisco (*) indica diferencia entre el nivel obtenido y el esperado.....	206
Figura 8. Mapa de análisis de penalización de la aceptabilidad global debida a los atributos de aroma, olor, color amarillo, adhesividad al tacto, humedad al tacto, hebrasidad, textura masosa, sabor amargo, y contenido de sal, en el Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca de la quesería A (a) y B (b) con 14 días de almacenamiento. El asterisco (*) indica diferencia entre el nivel obtenido y el esperado.....	208

Figura 9. Mapa de análisis de penalización de la aceptabilidad global debida a los atributos de aroma, olor, color amarillo, adhesividad al tacto, humedad al tacto, hebrasidad, textura masosa, sabor amargo, y contenido de sal, en el Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca de la quesería A (a) y B (b) con 17 días de almacenamiento. El asterisco (*) indica diferencia entre el nivel obtenido y el esperado..... 209

1. INTRODUCCIÓN

México posee un valioso patrimonio gastronómico y cultural constituido por sus quesos genuinos, artesanales e industriales. Además, la quesería artesanal reviste gran relevancia no solamente porque elabora un producto de reconocidas bondades nutricionales y gustativas, sino por su capacidad para generar y mantener el empleo rural para un gran número de agentes de la cadena agroindustrial leche; esto es: ganaderos, queseros y comerciantes (Cervantes y Villegas, 2011).

El queso es el producto resultante de la coagulación de la leche de ciertos mamíferos mediante la renina, presente en el cuajo, o por enzimas similares; del coágulo (cuajada) se elimina agua por corte, agitación de los fragmentos resultantes y por subsiguiente moldeado, prensado y madurado en condiciones adecuadas. Existen otras formas de obtener queso, por ejemplo, a través de la coagulación de la leche con un ácido orgánico (como el láctico o el acético), seguida de la separación del suero de la cuajada y salado, moldeado y prensado de ésta (Kosikowski, 1997).

Los quesos mexicanos genuinos son aquéllos que son propios, legítimos, naturales, auténticos y que representan parte de nuestra herencia, al ser resultado de nuestra historia, cultura y saber hacer. Todos son elaborados a partir de leche fluida de vaca o de cabra, cruda o pasteurizada, con el empleo mínimo de aditivos: cuajo, sal y eventualmente cloruro de calcio. Posen una fuerte raíz historia nacional, ya que se

elaboran desde tiempos coloniales o datan de algunas décadas, por lo menos (Cervantes y Villegas, 2011).

En México, casi la mitad de la leche producida transita por canales informales. En este sentido, se define a la agroindustria quesera informal (AIQI) como aquellas unidades que no cumplen con reglas oficiales y aplican procesos tecnológicos “básicos”, haciendo uso mínimo de equipos e insumos, y máximos de mano de obra; prácticas meramente artesanales (Pomeón y Cervantes, 2008). Esta agroindustria elabora productos de nicho, hechos artesanalmente y a baja escala, que están ligados a un territorio de origen y además son testimonio de la historia, de la cultura y del estilo de vida del lugar en el que se producen (Licitra, 2010).

Los quesos mexicanos genuinos pueden considerarse como productos típicos pues se hallan ligados, especialmente, a un territorio y culturalmente a costumbres o hábitos, con permanencia en el tiempo (antigüedad) y poseen características cualitativas particulares (impartidas por la materia prima, el proceso de hechura y el entorno físico y cultural) que lo diferencian de otros productos homólogos. Este es el caso de varios quesos mexicanos genuinos, nítidamente territoriales, por ejemplo el Cotija región de Origen, el Poro de Tabasco, el Queso Crema de Chiapas y el Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca.

El Quesillo es uno de los quesos mexicanos más difundidos y consumidos en México, donde se conoce genéricamente como queso Oaxaca (Villegas *et al.*, 2014). Este queso se clasifica como fresco, de pasta blanda e hilada (filata). Se elabora gradualmente a partir de leche cruda (branca) de vaca y se presenta típicamente en forma de “bolas”, o “madejas”, de diferentes tamaños y pesos, entre unos cuantos

gramos hasta uno o más kilogramos, de acuerdo como el cliente lo pida. El porcentaje de sal varía entre 2 y 4 %. Su presentación es muy atractiva, pues las cintas conjuntadas en una bola, le dan un toque muy artesanal y característico del producto. Otra característica sumamente importante es la formación de hebras, logradas por el grado de acidificación de la pasta y el amasado (“majado”) con agua caliente (Cervantes *et al.*, 2008).

Sin embargo, el Quesillo genuino sólo se consume localmente debido a su producción artesanal y limitados volúmenes de producción, siendo un queso con calidad de origen y muy ligado al municipio de Etla, específicamente a Reyes, de donde hasta ahora se acepta que es originario.

Además, en el contexto económico actual, altamente competitivo e incierto, existen productos de imitación y extranjeros, los cuales tienen más penetración en el mercado nacional, atendiendo algunos aspectos de su calidad integral que favorece su comercialización. Un aspecto asociado es el bajo precio de productos de imitación, lo cual es explicable debido a los bajos ingresos de la mayor parte de la población mexicana, con algún grado de pobreza (Núñez-Hernández, 2006).

A diferencia del queso Oaxaca genérico, el proceso de elaboración del Quesillo implica el uso de leche cruda, principalmente de ganado holstein rústico o holstein mezclado con ganado criollo; una fermentación de la pasta muy prolongada (que llega a ser mayor a 36 h); la formación de sabores propios, típicos, relativamente fuertes característicos de una pasta muy fermentada por la microflora láctica; el “formateo” de la banda o tira de la pasta quesera en forma de una madeja, o bola, que muestra un “ombligo” característico que lo diferencia de los quesillos o quesos Oaxaca de otras

regiones; además su producción es limitada y se realiza bajo sus propias condiciones de artesanidad.

Estas características hacen que el Quesillo genuino sea muy apreciado por los consumidores locales y por visitantes de la región de los Valles Centrales, particularmente de la ciudad de Oaxaca, donde el queso de Reyes tiene una fama muy grande, a tal grado que muchos vendedores promueven muchos tipos de quesillo con ese nombre (v. g. el elaborado en Chiapas, Puebla y la Central de Abasto). A tal grado es famoso este queso que ya no solamente la leche es extendida con polvos lácteos de importación, sino la misma pasta del queso se abunda, es decir se extiende por la incorporación de otros tipos de queso Oaxaca vía fundición y rehilado de la pasta.

El Quesillo es tan famoso y reputado que justificó la realización de una investigación para abordar su caracterización global, haciendo énfasis en su inocuidad y su vida sensorial de anaquel. Esta investigación fue de tipo observacional, transversal y longitudinal, se efectuó durante la temporada de lluvias (septiembre-noviembre 2014) y de secas (abril de 2015). Además favoreció la vinculación con la “Unión de Productores Auténticos de Queso y Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca”. En una primera fase se estudió el sistema agroindustrial, posteriormente se analizaron algunos rasgos de su calidad integral, como su calidad composicional y fisicoquímica básica y la microbiológica, esta última parte orientada hacia la determinación de su inocuidad al considerar dos de los patógenos más comúnmente reportados en la pasta quesera (i. e. *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* spp.).

La última parte se refiere a la determinación experimental de la vida de anaquel del producto conservado a una temperatura de cadena de frío. El estudio de las dos últimas fases se basó en el análisis de muestras de quesillo de dos queserías artesanales de la comunidad de Reyes, Etla, seleccionadas por criterios de muestreo dirigido, que consideraron la fama del producto, su permanencia en el mercado, y por la disposición de los propietarios para dar información y permitir la entrada a sus talleres productivos, y en ellos explorar completamente el proceso y otras prácticas de producción. Los objetivos de esta investigación fueron los siguientes:

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo general

Explorar la inocuidad del Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca con base en su microflora, y evaluar su vida de anaquel.

1.1.2. Objetivos particulares

- a) Determinar la calidad fisicoquímica de este quesillo (composición, textura, color, pH y actividad de agua).
- b) Evaluar el proceso térmico de la masa quesera durante el amasado, con relación a la inocuidad del producto.

1.2. Hipótesis

El Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca por ser un producto elaborado con leche cruda tendrá una alta carga de microorganismos objetables y se detectará la presencia de organismos patógenos en, al menos, una marca de los quesos de muestra. El proceso térmico de la masa quesera durante el amasado y el pH obtenido por la fermentación de la leche tiene relación con la inocuidad del producto.

2. MARCO DE REFERENCIA

2.1. Situación mundial de la producción de leche de vaca

Alrededor de 150 millones de hogares en todo el mundo se dedican a la producción de leche. En la mayoría de los países en desarrollo, la leche es producida por pequeños agricultores y la producción lechera contribuye a los medios de vida, la seguridad alimentaria y la nutrición de los hogares. La leche produce ganancias relativamente rápidas para los pequeños productores y es una fuente importante de ingresos en efectivo (FAO, 2015a).

Un gran número de países en el mundo considera la producción y abasto de leche como una prioridad nacional, razón por la cual establecen políticas de alto proteccionismo para el sector lácteo. En el mercado mundial la producción de leche se divide en dos grandes grupos: por un lado, los países altamente desarrollados con programas de subsidios elevados; y por otra parte, los países con bajos costos de producción derivados de condiciones agroclimáticas favorables y de la infraestructura para una producción eficiente (Secretaría de Economía, 2012).

Para el año 2014, las principales regiones productoras de leche en el mundo según el orden de producción fueron: la Unión Europea, integrada por 27 miembros; Norteamérica integrada por Canadá, Estados Unidos y México; Asia conformada por

China, India y Japón; América del Sur en la que se tiene a Argentina y Brasil; Europa del este integrada por Rusia y Ucrania; y, Oceanía en la que se incluye a Australia y Nueva Zelandia (ver Figura 1). El total de producción de estas regiones para ese año fue de 481.193 millones de toneladas (SAGARPA-SIAP, 2015a).

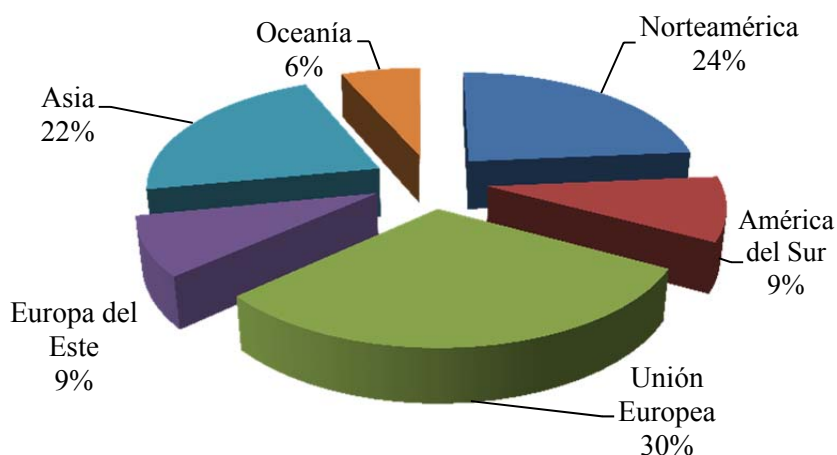


Figura 1. Principales regiones productoras de leche de vaca en el mundo para el año 2014.
Fuente: SAGARPA-SIAP, 2015a.

Según datos de la FAO (2015a) en los tres últimos decenios, la producción lechera mundial ha aumentado en más del 50 por ciento, pasando de 482 millones de toneladas en 1982 a 754 millones de toneladas en 2012. Desde el decenio de 1970, el aumento de la producción lechera se registra en su mayor parte en Asia meridional. La producción lechera en África crece más lentamente debido a la pobreza y, en algunos países, a las condiciones climáticas adversas. Los países con los mayores excedentes de leche son Nueva Zelanda, los Estados Unidos de América, Alemania, Francia, Australia e Irlanda. Mientras que los países con los mayores déficits de leche son China, Italia, la Federación de Rusia, México, Argelia e Indonesia. Para el año 2012, los principales países

productores de leche fueron Estados Unidos, India y China (ver Figura 2). En el 2012, México ocupó el lugar 15 en la producción mundial de leche.

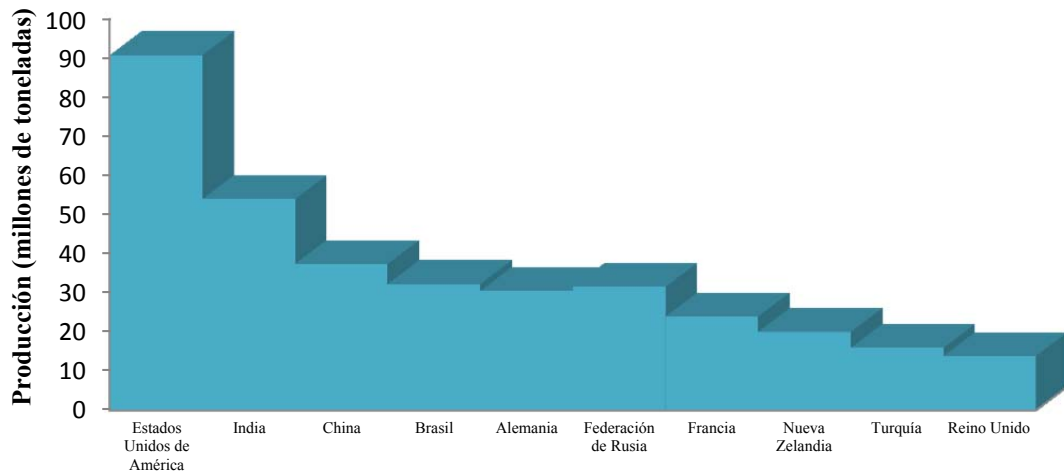


Figura 2. Principales países productores de leche de vaca a nivel mundial en el año 2012.
Fuente: FAO, 2015b.

2.2. Situación de la producción de leche de vaca en México

En México la producción de leche de bovino es muy heterogénea desde el punto de vista tecnológico, agroecológico y socioeconómico, incluyendo la gran variedad de climas regionales y características de tradiciones y costumbres de las poblaciones. Sin embargo, la industria de productos lácteos es la tercera actividad más importante dentro de la rama de la industria de alimentos en México, y depende de la disponibilidad de la leche nacional su crecimiento (Secretaría de Economía, 2012).

En los últimos años, la producción de leche de bovino ha sufrido los estragos de la crisis económica mundial, así como los altibajos en los precios de leche

internacional, sobre todo de leche descremada en polvo. Estos precios han inferido de forma directa en los precios de leche nacional (ASERCA-SAGARPA, 2010). En el año 2006 se importaron 143, 529 toneladas de leche en polvo; para 2013 la cifra fue de 205, 228. O que significa un aumento de 43 % en siete años. En diciembre de 2104, las necesidades de leche en polvo fueron de 445, 781 toneladas, de las cuales 46.5 % se importaron, principalmente de Estados Unidos quien provee de 9 de cada 10 toneladas compradas en el exterior (SAGARPA-SIAP, 2015b). Según datos de la FAO (2015b) para el años 2014 México tuvo el primer lugar mundial en compras de leche en polvo con el 8.6 %.

En México la producción de leche de bovino es muy heterogénea desde el punto de vista tecnológico, agroecológico y socioeconómico, incluyendo la gran variedad de climas regionales y características de tradiciones y costumbres de las poblaciones. Sin embargo, la industria de productos lácteos es la tercera actividad más importante dentro de la rama de la industria de alimentos en México, y depende de la disponibilidad de la leche nacional su crecimiento (Secretaría de Economía, 2012).

En el año 2014 se produjeron 11,130 millones de litros, 1.5 % más que el año anterior. Las entidades que aumentaron su producción fueron Guanajuato (8.3 %), Chihuahua (2.7 %), Coahuila (2.6 %) y Durango (1.9 %). Por otro lado, las entidades que disminuyeron su producción fueron Veracruz (-1.8 %), México (-1.7 %), e Hidalgo (-3.4 %). Los estados de Jalisco (18.7 %), Coahuila (12.2 %), Durango (9.3 %) Chihuahua (9.1 %), y Guanajuato (6.9 %) aportaron alrededor del 56 % de la de la producción lechera nacional. De manera particular, Oaxaca produjo

148.964 millones de litros aportando el 1.33 % de la producción nacional (SAGARPA-SIAP, 2015a).

Los incrementos alcanzados en la producción de leche son consecuencia de mejoras en la tecnificación en las regiones identificadas como altamente productoras, la aplicación de técnicas en el manejo de ganado con mejores características productivas de razas especializadas, la consolidación y expansión de las principales empresas lecheras nacionales, así como por las organizaciones de productores integrados que han incrementado su participación en el mercado de productos terminados (ASERCA-SAGARPA, 2010).

2.3. Sistemas de producción de leche en México

La producción de leche se realiza en sistemas que van desde el tecnificado hasta los de subsistencia en una misma región. Se distinguen, de forma general, cuatro sistemas: el especializado, el semiespecializado, el de doble propósito y el familiar o de traspatio. A continuación se realiza una descripción del sistema de producción familiar, ya que es el que se presenta en la zona de estudio (SAGARPA, 2000).

El sistema de producción familiar, o de traspatio, representa la tradición de la ganadería de México. La explotación del ganado está condicionada a pequeñas superficies de terreno, principalmente en las viviendas. Pueden ser de tipo estabulado o semiestabulado. Los hatos son menores a 10 vacas en producción más sus reemplazos, de las razas holstein y en menor proporción el suizo americano y cruzas. Produce leche de buena calidad. El nivel tecnológico se puede considerar bajo. La fuerza de trabajo familiar constituye la base en la realización de las actividades. El ordeño es manual o

mecánico. No se llevan registros de ningún tipo (de producción, reproducción, contables, administrativos, etc.) (SAGARPA, 2000; Cervantes, 2001).

En este sistema lechera, la alimentación está basada en el pastoreo o en el suministro de forrajes y esquilmos provenientes de los cultivos que produce el mismo productor. Su producción promedio se ubica entre 1600 y 3000 litros/vaca/año produciendo 780 millones de litros, lo que significa una aportación a la producción nacional de 9.4 %. La leche producida se destina al autoconsumo y en ocasiones es vendida a intermediarios o directamente al público. Cabe señalar que este sistema predomina en los estados de Jalisco, México, Michoacán, Hidalgo, Sonora, y en menor grado en Aguascalientes, Baja California, Coahuila, Chihuahua, Distrito Federal, Durango y Nuevo León (SAGARPA, 2000; Cervantes, 2001).

2.4. Situación de la quesería nacional

La agroindustria quesera (AIQ) se caracteriza por ser el subsector de la agroindustria lechera con mayor número de empresas. Oficialmente existen alrededor de 1,500 queserías, que emplean cerca de 20 mil personas, dominando el empleo permanente. Para Mariscal *et al.* (2004), “las industrias dominantes determinaron la geografía actual de la producción de leche, caracterizada por su concentración en unas cuantas zonas”. Sin embargo, casi la mitad de la leche producida transita por canales informales. En este sentido, se define a la agroindustria quesera informal como aquellas unidades que no cumplen con reglas oficiales y aplican procesos tecnológicos “básicos”, haciendo uso mínimo de equipos e insumos, y máximos de mano de obra; prácticas meramente artesanales. La ventaja de la AIQI, reside en la producción de quesos

tradicionales que constituyen un nicho de mercado, a reserva de cumplir con un mínimo de calidad sanitaria (Pomeón y Cervantes, 2010).

La producción de queso se ha mantenido también en varias pequeñas cuencas queseras en todo el país. Existen, así, algunas regiones más o menos grandes, especializadas en la producción de queso: Tulancingo, en Hidalgo; San José de Gracia, en Michoacán; la región sur de Tlaxcala-Puebla, la Costa de Chiapas; las colonias menonitas, en Chihuahua; la Sierra de Jalmich, etcétera. Sin embargo, las empresas más importantes se ubican en el norte, y en los estados de Jalisco y Guanajuato. Dichas empresas producen principalmente quesos frescos, por ser los más consumidos, los más fáciles de hacer, y los más rentables. Algunas empresas importan productos madurados y semimadurados para completar su línea de producción (Pomeón y Cervantes, 2010).

Para noviembre de 2014, la elaboración de derivados lácteos como quesos, crema y yogur alcanzó un volumen de 1, 003, 973 toneladas. Por su parte la industria quesera produjo 312, 082 toneladas. Los principales tipos de queso que se produjeron fueron el Chihuahua (18 %), el crema (16 %), el fresco (14 %), el amarillo (13 %), el panela (12 %), el Manchego (8 %), el Oaxaca (6 %) y el doble crema (5 %) (SAGARPA-SIAP, 2015b).¹

2.5. Quesos de pasta filata

Pasta filata es un término italiano que significa “pasta hilada”; hace referencia al proceso de cocido y estirado de la cuajada de queso cerca del final del proceso de

¹ Nota: Estos productos que “oficialmente” se aceptan como quesos en realidad son producto de imitación de queso, ya que no emplean completamente leche fluida; más bien incluyen “extensores”, como leche en polvo y otros polvos lácteos proteícos.

elaboración. Después del proceso de estiramiento, el queso fundido es inmediatamente moldeado en su forma final y enfriado (Kindstedt, 2007).

En la elaboración de quesos de pasta filata, la cuajada fermentada se desmenuza, se calienta alrededor de 58-60 °C por amasado en agua caliente (78 °C), y se estira. El proceso en el que la cuajada es convertida en una masa plástica derretida se define como “plastificación”. Este proceso se desarrolló originalmente en climas cálidos como una medida de pasteurización para extender la vida de anaquel de la cuajada con pobre calidad microbiológica (Fox *et al.*, 2000). Durante el estiramiento, la matriz de paracaseína amorfa de la cuajada se reacomoda en líneas paralelas de fibras que se interrumpen por canales que contienen glóbulos de grasa y suero (Kindstedt, 2007).

Para un estiramiento óptimo, se requiere de dos condiciones. Primero la obtención de una cuajada suficientemente acidificada y desmineralizada, que permita la plastificación y el estiramiento por la aplicación del calentamiento. Y segundo, la transferencia de calor debe ser suficiente para que la consistencia de la cuajada se torne plástica y fluida antes de amasarla y texturizarla. El estiramiento de una cuajada incompletamente plastificada puede causar la pérdida de humedad y grasa, resultando en una alteración de la composición y un bajo rendimiento. Un calentamiento excesivo puede demeritar las propiedades funcionales de queso (Kindstedt, 2007).

El tratamiento térmico (el perfil de tiempo-temperatura) aplicado a la cuajada durante el estiramiento también afecta las propiedades proteolíticas y microbiológicas durante el almacenamiento en refrigeración. El intervalo crítico de temperatura, donde se tiene un mayor efecto, está entre 60 y 66 °C. A temperaturas de la cuajada por

debajo de 60 °C, las bacterias iniciadoras termofílicas (v. g. *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus* spp.) y el coagulante residual (v. g. quimosina) permanecen activos durante la maduración. Arriba de 60 °C, los cultivos iniciadores y la actividad de la renina residual disminuyen progresivamente con el aumento de la temperatura, sólo poca actividad permanece cuando las temperaturas exceden los 66 °C durante el estiramiento (Kindstedt, 2007).

En los quesos es posible encontrar microflora benéfica e indeseable. Por ejemplo, las bacterias lácticas que se han aislado de quesos de pasta filata son *S. thermophilus*, *Streptococcus macedonicus*, *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis*, *Enterococcus* spp. y bacterias ácido lácticas no iniciadoras (NSLAB). Por otra parte, aunque el estiramiento puede reducir la cuenta de microorganismos indeseables, el objetivo es dar a la cuajada la textura deseada no asegurar su inocuidad. En este sentido, un calentamiento inadecuado o subletal puede resultar en una inactivación incompleta de los patógenos (Pintado *et al.*, 2015).

Específicamente, en queso Oaxaca artesanal producido con leche cruda proveniente del valle de Tulancingo, Hidalgo, México, Caro *et al.* (2013) aislaron cepas de *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus paracasei* ssp. *Paracasei* y *Lactobacillus sakei*. De las cuales, 4 cepas de *Lb. plantarum* resultaron adecuadas para su utilización como cultivo láctico, debido a que presentaron un alto poder acidificante, un índice de resistencia a antibióticos ≤ 0.20 , y mostraron actividad contra *Staphylococcus aureus* enterotoxigénica y contra *Listeria innocua*.

2.6. Quesos mexicanos genuinos

Los quesos mexicanos genuinos son los elaborados a partir de leche fluida, de vaca o de cabra, fundamentalmente cruda, con el empleo mínimo de aditivos: cuajo, sal y eventualmente cloruro de calcio. Poseen una fuerte raíz histórica nacional, ya que se elaboran desde tiempos coloniales o datan de algunas décadas, por lo menos (Cervantes y Villegas, 2011).

En México hay registrados alrededor de 40 quesos propios, los cuales la mayoría son elaborados a nivel artesanal y se comercializan en un ámbito regional. Cabe señalar que el número de tipos elaborados con leche pasteurizada es muy limitado, pues la mayoría se elabora con leche bronca, o cruda, en general por la industria pequeña o mediana, empleando métodos artesanales, rústicos y carentes casi siempre de control de calidad (Villegas, 2004; Cervantes *et al.*, 2008).

Es importante señalar que, la genuinidad y tipicidad, constituyen rasgos cualitativos esenciales que caracterizan a los quesos mexicanos tradicionales, y pueden ser utilizados como estrategia comercial, de tal forma que contribuyan a revalorizar estos productos entre los consumidores potenciales quienes, por desconocimiento o prejuicio alimentario, orientan sus preferencias hacia los quesos de imitación; eso puede alentar y motivar a los queseros artesanales para que continúen con su actividad, la cual actualmente perciben sin mucho futuro (Cervantes y Villegas, 2011).

2.7. Quesillo

El Quesillo se clasifica como fresco, de pasta blanda e hilada (filata). Se elabora a partir de leche cruda (branca) de vaca y se presenta típicamente en forma de “bolas”, o “madejas”, de diferentes tamaños y pesos, entre unos cuantos gramos hasta uno o más kilogramos, de acuerdo como el cliente lo pida. El porcentaje de sal varía de entre 2 y 4 %. Su presentación es muy atractiva pues las cintas conjuntadas en una bola, le da un toque muy artesanal y es característico del producto. Otra característica sumamente importante es la formación de hebras, logradas por el grado de acidificación de la pasta y el majado con agua caliente (Cervantes *et al.*, 2008).

2.8. Inocuidad de los quesos de leche cruda

La leche cruda posee un formidable potencial como reservorio de diversidad microbiana, lo que se refleja en los conteos de cientos, o incluso miles, de cepas diferentes (Desmasures y Beuvier, 2011; Montel *et al.*, 2014). En realidad, la leche dentro de la ubre de animales sanos es estéril (Ryser, 2012). La leche fresca obtenida de un animal sano, bajo condiciones sanitarias (i.e. buena higiene) contiene relativamente escasos microorganismos, pero subsecuentemente llega a ser poblada por microbiota (Fox *et al.* 2000).

Entre la flora microbiana habitualmente detectada en leche cruda de buena calidad sanitaria se encuentran estafilococos ($100-1000 \text{ ufc} \cdot \text{mL}^{-1}$), bacterias corineformes ($100-1000 \text{ ufc} \cdot \text{mL}^{-1}$), y bacterias lácticas ($10-100 \text{ ufc} \cdot \text{mL}^{-1}$). En la mayoría de los casos, se detecta también pseudomonas ($100-1000 \text{ ufc} \cdot \text{mL}^{-1}$), bacterias propiónicas ($10 \text{ ufc} \cdot \text{mL}^{-1}$),

levaduras ($10\text{-}100\text{ ufc}\cdot\text{mL}^{-1}$), y enterobacterias ($10\text{ ufc}\cdot\text{mL}^{-1}$) (Desmaures y Beuvier, 2011).

La contaminación ocurre debido a que la leche es un ecosistema abierto que entra en contacto con el exterior durante o después de la ordeña. Las posibles fuentes de contaminación de la leche cruda están divididas en tres grupos: la ubre, el ambiente (manipuladores, aire, y fuentes de agua), y el equipo de ordeño. Las vacas mastíticas infectadas con *S. uberis* y *E. coli* pueden aportar $10^7\text{ ufc}\cdot\text{g}^{-1}$ y $10^8\text{ ufc}\cdot\text{g}^{-1}$. El echadero puede contener niveles de microorganismo de $10^8\text{--}10^{10}\text{ ufc}\cdot\text{g}^{-1}$. El polvo es una fuente importante de *Bacillus subtilis*. Cepas de *Y. enterocolitica*, *Salmonella* Typhimurium, y *L. monocytogenes* llegan a estar presentes en los sistemas de pasteurización y enfriamiento, así como en la superficie del equipo. El agua se asocia a la presencia de parásitos (*Cryptosporidium parvum*). El alimento puede llegar a contaminar la leche ya sea por caer en ella, o por la presencia de microorganismos que llegan directamente a través del sistema digestivo de la vaca (Özer y Yaman, 2014).

El queso de leche cruda se define como un producto “vivo”, fabricado con leche de vaca, cabra u oveja que no ha sufrido tratamiento térmico a temperaturas superiores a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, por lo que la flora láctica autóctona y los sistemas enzimáticos, que juegan un rol complejo en distintas etapas de la fabricación, se preservan generando una gran diversidad de gustos y aromas que caracterizan a estos quesos (Agreste-Primeur, 2007).

En los quesos elaborados con leche cruda, el complejo equilibrio entre poblaciones de microorganismos (de diferentes géneros, especies y cepas) no es estable, sino que ocurre una sucesión de la microbiota durante la maduración, que tiene efecto en el

desarrollo de una gran diversidad de gustos y aromas, así como en la inocuidad del producto (Grappin y Beuvier, 1997; Mahaut *et al.*, 2001; Irlinger y Mounier, 2009). Sin embargo, cuando no existe un manejo higiénico adecuado la contaminación con bacterias indeseables, patógenas (v.g. *Staphylococcus aureus*) y deteriorantes (v.g. coliformes), puede ocurrir.

La FAO define a la inocuidad como la garantía de que un alimento no causará daños a la salud del consumidor, cuando el mismo sea preparado o ingerido de acuerdo al uso que se le destine. El daño a la salud está ligado a los peligros que pudieran estar presentes en los alimentos. Los peligros son los agentes biológicos, químicos o físicos capaces de provocar un efecto nocivo para la salud. Los tipos de peligros que pueden estar presentes en los alimentos se clasifican en biológicos (v.g. microorganismos y virus), químicos (v. g. presencia de antibióticos, residuos de plaguicidas, metales pesados, entre otros), y físicos (v. g. objetos como vidrios, plásticos, metales, etc.). A su vez el riesgo asociado al alimento es la probabilidad de que el efecto nocivo este presente y de la gravedad de dicho efecto. El riesgo está en función de la duración e intensidad de la exposición al peligro y a la susceptibilidad del consumidor.

Los peligros biológicos en el queso se enfocan hacia la presencia de microorganismos patógenos para el ser humano que son establecidos por la normatividad nacional, específicamente en la NOM-243-SSA1-2010, dentro de los que se encuentran *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes*. En este sentido, Ryser (2012) menciona que más del 90 % de los brotes alimentarios asociados al consumo de productos lácteos ha sido realmente causado por pocas bacterias patógenas, como *Salmonella* y *Campylobacter*, pero que

desde la década de 1980, *E. coli* O157:H7 y *Listeria monocytogenes* han sido frecuentemente asociadas con leche y derivados lácteos (v.g. quesos frescos).

Sin embargo, en los Estados Unidos, del año 1900 a 1989 no se registraron casos de brotes de enfermedad ligados al consumo de quesos de leche cruda, y no fue sino hasta el lapso correspondiente de 1990 al 2006 cuando este tipo de productos se asociaron a un 12 % de los brotes producidos por el consumo de productos lácteos (Donnelly, 2004).

Por otra parte, la inocuidad de los quesos no depende solamente de la calidad microbiológica de la leche en un paso en el proceso de fabricación, sino de la evaluación precisa de todos los procesos de manera integral (Cunyngham y Denny, 2007). Por ejemplo, la leche que se utilizará en la producción deberá tener cuentas bacterianas menores a $20,000 \text{ ufc} \cdot \text{mL}^{-1}$ y de células somáticas inferiores a $400,000 \text{ células} \cdot \text{mL}^{-1}$, además de estar libre de patógenos; se recomienda también la implementación de cadenas de frío y la utilización de bacterias iniciadoras durante la fabricación de los quesos (Fox *et al.*, 2000). En este sentido, la aplicación de buenas prácticas de higiene, y la implantación del sistema HACCP, han demostrado ser suficientes para obtener leche cruda con bajas cuentas de microorganismos (v.g. bacterias mesófilas aerobias y coliformes) y libres de bacterias patógenas (D'Amico y Donnelly, 2010).

Además, se debe tomar en cuenta que las bacterias ácido lácticas (BAL) ejercen un poder conservador en los alimentos que se atribuye a la acción combinada de un conjunto de metabolitos antimicrobianos producidos durante el proceso de fermentación (Caplice y Fitzgerald, 1999). Algunos de los cuales son: los ácidos orgánicos (como láctico, acético y propiónico); el etanol; el H_2O_2 ; el diacetilo; la reuterina; la

reuterocinlina (Ross *et al.*, 2002); y por la producción de bacteriocinas (v. g. nisina, lacticina 4811, lactocina S, carnocina UI49, pediocina, entre otras) (Abee, 1995; Schillinger, 1996).

De manera particular, la formación de ácido láctico previene el crecimiento de microorganismos indeseables. El efecto de este ácido orgánico se basa en la desestabilización de la membrana celular y de enzimas clave. Su actividad antimicrobiana se incrementa con la disminución del pH, por condiciones anaeróbicas y por la temperatura, además está en función de las moléculas no disociadas del ácido (Dillon, 2014; Walstra *et al.*, 2006; Beresford, 2007). El ácido láctico ha demostrado tener actividad antimicrobiana en bacterias como *Salmonella* Typhimurium (De Keersmaecker *et al.*, 2006; Kim y Marshall, 2000; Vélez-Zea *et al.*, 2015), *Salmonella* Enteritidis, *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* (Wang *et al.*, 2015).

En el caso de los quesos nativos de México, desde hace aproximadamente una década se han realizado estudios sobre la microflora genérica de varios especímenes, algunos de difusión nacional, otros comercializados regional y localmente; la mayoría de ellos con al menos un incipiente periodo de maduración, de algunos días, al ser retenidos en las unidades de producción o durante su desplazamiento por los canales de distribución y el consumidor.

En dichos estudios se ha encontrado una baja carga de bacterias coliformes en algunos quesos (v.g. el de Poro, el Bola de Ocosingo y el Crema de Chiapas), la que se puede explicar con base en la teoría de barreras, como lo indican Pérez y Bucio (2003), por un bajo pH, una elevada concentración de ácido láctico, una relativamente baja a_w

(menor a 0.94) y el efecto antagónico de la microflora BAL que puebla la pasta quesera. Es de llamar la atención que los tiempos de maduración de estos quesos no es muy prolongado, solamente de algunos días, aunque el proceso de maduración logra acelerarse por las temperaturas de su entorno, medioambiental (arriba de 20 °C, a la sombra).

Por otra parte, el estudio específico de los microorganismos considerados como peligros biológicos se muestra en el Cuadro 1. En este se observa que de los 10 quesos mexicanos tradicionales considerados, todos de leche cruda, y en los que se exploró la presencia de *Salmonella* spp., ésta se detectó en el 30 % de los quesos (esto es, sólo en un porcentaje de las muestras analizadas); empero, esta bacteria no estuvo presente en todos los quesos muy fermentados de la muestra (el de Poro, el de Bola de Ocosingo, y el Crema de Chiapas), en los cuales tampoco se detectó la presencia de *Listeria monocytogenes*, y en los que *Staphylococcus aureus* presentó una cuenta muy reducida que incluso cumple la estricta NOM-243-SSA1-2010. De la información analizada parece evidente que *Listeria monocytogenes* resulta no ser un problema de inocuidad de los quesos estudiados, no obstante ser elaborados con leche cruda y en algunos casos ser quesos frescos. Empero, la abundante carga de *Staphylococcus aureus* en algunos de los quesos frescos (como en el Adobera y el Panela de Jalisco) deben ser casos de atención para mejorar su calidad sanitaria.

Cuadro 1. Presencia de microbiota patógena (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes*) en muestras de quesos mexicanos tradicionales.

NOMBRE DEL QUESO	Condiciones del entorno microbiano (pasta quesera)					<i>Staphylococcus aureus</i> spp. ($\log_{10}$ UFC.g ⁻¹)	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Listeria monocytogenes</i>	Referencia
	Humedad (%)	NaCl (%)	pH	a _w					
De Poro	Fresco, de 1 a 3 días Leche cruda	33.20	3.19	4.34	0.94	<2	Ausente	Ausente	Martínez (2011)
De Poro	7 días de maduración, al ambiente; leche cruda	N. R.	N. R.	4.33	0.945	<2	Ausente	Ausente	Escobar et al. (2012)
Bola de Ocosingo	50 días de maduración, leche cruda	28.29	NR	4.54	0.926	<2	Ausente	Ausente	Escobar et al. (2012)
Crema de Chiapas	Leche cruda	41.79	N. R.	4.37	N. R.	de <2 a 3.27	Ausente	Ausente	Rangel et al. (2011)
Crema de Chiapas	De 19 días, conservado a temperatura ambiente. Elaborado con leche cruda	35	3.78	4.1	0.92	3.43 coagulasa (-)	Ausente	N. R.	Aparicio (2011)
Adobera de la Sierra de Amula (Atengo Jalisco)	Tres muestras de queso Elaborado con leche cruda	50.8	3.07	6.07	0.966	5.3	Presente 66% (2/3)	N. R.	Castro (2012)
Panela de Soyatlán del Oro (Jalisco)	5 días post-hechura. Tres muestras Elaborado con leche cruda	58.65	3.3	5.13	N. R.	6.32	Presente 66% (2/3)	N. R.	Montaño (2012)
Cotija Región de Origen, Sierra de Jalmich	Madurado al menos tres meses, por Reglas de Uso Diez muestras Elaborado con leche cruda	37.1	3.4	5.4-5.8	0.89-0.91	Presente 30% (3/10)	Presente 20% (2/10)	Ausente	Quirasco (2008)
Panela (genéricos)	16 muestras procedentes de mercados de las 16 Delegaciones del D. F.	N. R.	N. R.	N. R.	N. R.	Presente en 6% (1/16) No cumple con la NOM-243-SSA1-2012	Ausente	Ausente	Colón et al. (2014)
Tipo Oaxaca (genéricos)	16 muestras procedentes de los 16 Delegaciones del D. F.	N. R.	N. R.	N. R.	N. R.	Presente en 44% (7/16) No cumple con la NOM-243-SSA1-2012	Ausente	Ausente	Colón et al. (2014)

N.R. No reportado.

Es claro que el descenso del pH vía fermentativa por las BAL, es un factor de microambiente de gran efecto seleccionador de la microbiota de un queso de leche cruda; se ha mostrado (Beresford *et al.*, 2001; Perez y Bucio, 2010) que pHs menores de 4.5 tornan el medio muy hostil para poblaciones ácido-sensibles, como las coliformes y las enteropatógenas. A este respecto, hay que destacar a quesos mexicanos tradicionales muy ácidos, como el Queso Crema de Chiapas, el Queso de Poro de Tabasco y el Queso Bola de Ocosingo (Chiapas), cuyo pH varía entre 3.8 y 4.5 (González, 2009; Escobar *et al.*, 2012).

2.9. Vida de anaquel

La vida de anaquel se define como el tiempo durante el cual un alimento permanece inocuo, cumple con la declaración nutrimental de la etiqueta, y mantiene sus características sensoriales, químicas, físicas y microbiológicas deseadas cuando es almacenado bajo las condiciones recomendadas (IFST, 1993). La vida de anaquel está en función del tiempo, de factores ambientales, y de la susceptibilidad del producto a cambios de calidad (Giménez *et al.*, 2012). En muchos productos los cambios en las características sensoriales ocurren mucho antes de que aparezcan riesgos para la salud del consumidor (Lawless y Heymann, 2010), por lo que la vida de anaquel de muchos productos se limita por los cambios en sus características sensoriales (Hough, 2010).

La predicción correcta de la vida de anaquel es esencial para los consumidores y para los productores. La fecha de término de vida de anaquel se considera por muchos consumidores como una medida de la frescura de los alimentos, confiando en que la información que provee el fabricante para decidir la compra. La magnitud del riesgo

percibido y la experiencia previa con un producto influyen en los consumidores para revisar la fecha de expiración del producto (Giménez *et al.*, 2012).

Una de las metodologías para la estimación de la vida de anaquel de un alimento consiste en la evaluación de las características sensoriales de un grupo de muestras con diferentes tiempos de almacenamiento. Para la obtención de las muestras se siguen dos diseños de almacenamiento: el básico, que consiste en almacenar uno lote de producto bajo condiciones normales y probarlo lo varias veces durante su almacenamiento; y, en reversa, que consiste en evaluar un grupo de muestras con diferente fechas de fabricación para evaluarlas en una sola sesión (Hough, 2010).

Dependiendo del tipo específico de estudio, el experimento de evaluación sensorial puede ser realizado mediante la aplicación de metodologías discriminativas, descriptivas y afectivas (Kilcast y Subramaniam, 2000). La estimación de la vida de anaquel sensorial requiere de la selección en criterio de falla o de un punto de corte, que corresponde al máximo deterioro que se considera aceptable (Giménez *et al.*, 2012).

La evaluación de la vida de anaquel sensorial es estimada como el tiempo de almacenamiento en que un producto alcanza un nivel de deterioro predeterminado, sobre el cual ya no es vendible. Algunos de los criterios de falla son: el incremento o la disminución sobre la intensidad media de un atributo sensorial; el tiempo necesario para alcanzar una nivel establecido en la calidad global; cuando hay diferencias perceptibles entre el producto fresco y el evaluado; cuando hay diferencias significativas en comparación con los análisis descriptivos del producto fresco; por alcanzar un puntaje de aceptabilidad global o una proporción predeterminada de rechazo al consumo o

compra del producto. Se ha encontrado que cambios significativos en las calificaciones descriptivas en el análisis sensorial de un alimento no siempre se tradujeron en diferencias en la aceptabilidad del consumidor (Giménez *et al.*, 2012).

Las decisiones sobre vida de anaquel basadas en límites arbitrarios deben tomarse con cautela, ya que no siempre reflejan la decisión de aceptación o rechazo del producto. La calificación global usualmente provee poca información sobre la actuación de los consumidores ante un producto harían normalmente cuando la aceptabilidad global está por debajo de cierto valor ya que podrían no rechazar el consumo del producto (Giménez *et al.*, 2012).

La estimación de la vida de anaquel basada en el rechazo del consumo de un alimento puede efectuarse mediante el análisis de supervivencia (Kleinbaum, 1996). El análisis de supervivencia es un conjunto de procedimientos estadísticos para el análisis del tiempo hasta el cual un evento de interés ocurre; siendo usado extensivamente en estudios clínicos, epidemiológicos, biológico, sociológicos, y de confiabilidad (Giménez *et al.*, 2012). Algunos aspectos importantes de esta metodología son (Hough *et al.*, 2003):

1. El riesgo se enfoca en el rechazo del producto por el consumidor, más que por el deterioro.
2. El trabajo sensorial es relativamente simple. Se pregunta a un grupo de consumidores sobre la aceptación o rechazo de muestras con diferente tiempo de almacenamiento.

3. La decisión de aceptación/rechazo está en conformidad con lo que los consumidores realizan de forma habitual cuando son confrontados con un producto cercano al final de su vida de anaquel sensorial.
4. Un software estadístico especializado se necesita para realizar los cálculos. Minitab permite el análisis de supervivencia para datos censurados.

2.10. Ubicación del área de estudio

Reyes Etla recibe su nombre en honor de los tres Reyes Magos. Etla significa: "donde abunda el frijol" y proviene de los vocablos Etl: "frijol" y Tla: "abundancia". Se localiza en la parte central del estado, en la región de los Valles Centrales, pertenece al distrito de Etla. Se ubica entre los paralelos 17°10' y 17°15' de latitud norte; los meridianos 96°48' y 96°51' de longitud oeste; con una altitud entre 1 600 y 1 800 metros sobre el nivel del mar. Colinda al norte con el municipio de Magdalena Apasco; al este con los municipios de Magdalena Apasco y Villa de Etla; al sur con los municipios de Villa de Etla, Guadalupe Etla, Nazareno Etla y San Andrés Zautla; al oeste con los municipios de San Andrés Zautla y Magdalena Apasco (Secretaría de Gobernación. 1988). Ocupa el 0.01 % de la superficie del estado. Cuenta con 7 localidades y una población total de 3 252 habitantes (INEGI, 2015). En la Figura 3 se observa la localización del distrito de Etla dentro de la Región de Valles Centrales en Oaxaca, México.



Figura 3. Localización del distrito de Etlá en la Región de Valles Centrales y dentro de Oaxaca.

Tiene un clima semicálido subhúmedo con lluvias en verano, con un rango de temperatura de 18 a 20 °C y de precipitación de 600 a 700 mm. El suelo dominante es de Vertisol (83.44 %) y Regosol (16.56 %). Cuenta con una mina de Uranio. Pertenecce a la región hidrológica de Costa Chica-Río Verde, a la cuenca del Río Atoyac y a la subcuenca del Río Atoyac-Oaxaca de Juárez. Tiene como corrientes de agua perenne al río Atoyac y como intermitentes a los ríos San Gabriel, Magdalena y Los Sabinos. El uso del suelo es agrícola (56.75 %) y zona urbana (19.29 %). Como vegetación cuenta con pastizal inducido (23.96 %). El uso potencial de la tierra agrícola para la agricultura mecanizada continua es de 95.39 % y no aptas para la agricultura es de 4.61 % (INEGI, 2015).

2.11. El sistema agroindustrial

Según Grass (2010), el sistema agroindustrial (SAI) puede entenderse como el conjunto de relaciones y procesos en el que intervienen los productores agropecuarios y sus agentes económicos y sociales, y que se producen por el flujo que deben sufrir los

productos agropecuarios cuando salen de los sistemas de producción para poder llegar hasta el consumidor final, incluyendo los proveedores, unidades de transformación agroindustrial y comercializadores. El funcionamiento del Sistema Agroindustrial se fundamenta en la integración de los subsistemas que lo conforman, entre los cuales tenemos:

- 1) El subsistema de producción, vinculado con las características de los sistemas de producción agropecuarios y las agroindustrias de transformación (tamaños, tecnologías, tenencia y formas de propiedad de los recursos productivos, entre otros).
- 2) El subsistema de relaciones sociales establecidas entre los diferentes agentes del sistema.
- 3) El subsistema de relaciones institucionales y políticas que rigen el sistema.
- 4) El subsistema de relaciones con la economía de mercado (macro y microeconomía).

Los anteriores subsistemas desarrollan funciones especializadas y tienden a organizarse en redes de relaciones económicas y sociales, que están reguladas por el Estado y acuerdos entre los actores. Se recomienda el uso del enfoque de sistemas agroindustriales cuando se requiere analizar de manera amplia los sistemas agropecuarios, reconociendo las relaciones económicas y sociales con los diferentes actores ubicados hacia atrás (proveedores de insumos) y hacia adelante del sistema (consumidor), así como la participación del Estado y el aparato institucional. Las relaciones económicas y sociales que se producen en el sistema deben evolucionar a la generación de propuestas de fortalecimiento del sistema agroindustrial, y en especial de las comunidades rurales (Grass, 2010).

El sistema agroindustrial (SAI) presenta las siguientes cualidades: está formado por un conjunto de componentes conectados o relacionados de tal manera que forman o actúan como una unidad o un todo (estos componentes son interdependientes); existen relaciones funcionales entre sus partes, presenta una frontera que lo acota; tiene como referencia un entorno que lo circunda; tiende a autorregularse; posee una cierta “direccionalidad”, y cuenta con “principios organizadores” (Villegas *et al.*, 2010). En concreto, los elementos que conforman un SAI son:

- El eslabón primario: constituido por todos los productores primarios, agrícolas y pecuarios involucrados en la producción de la materia prima principal que circula en el sistema.
- El eslabón secundario: conformado por los industriales, con empresas de distinto tamaño y características, que transforman una materia prima agropecuaria específica. Se trata de empresas agroindustriales especializadas en el mismo producto.
- El eslabón terciario: constituido por todos los agentes de distribución del bien agroindustrial final específico; aquí se consideran los distribuidores y comercializadores mayoristas, y los comercializadores a detalle, que allegan los productos a los consumidores finales.

A manera de “arreglo en cadena” se vinculan la totalidad de los agentes activos de los eslabones del sistema. Las relaciones que pueden establecerse entre agentes de dos eslabones contiguos pueden ser económicas (mediante intercambio de

dinero), sociales y de intercambio no comercial. El grado de articulación entre los agentes y entre los eslabones, dependerá de la intensidad de las relaciones que sostengan. El conjunto de eslabones articulados es la columna vertebral del sistema, y ésta se halla “rodeada” por una frontera abstracta, misma que se define por el producto, en un tiempo y área geográfica definidos.

Fuera del sistema, es decir en el entorno, se encuentran otros agentes como los proveedores de maquinaria y equipos, o de ingredientes menores, instituciones de investigación o apoyo a cualquiera de los eslabones, y el cliente final.

3. BIBLIOGRAFÍA

- Abee al T., Krockel L. and Hill C. (1995). Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. *Journal Food Microbiology* 28: 169-185.
- Agreste-Primeur. (2007). Comtés, reblochons et camemberts de Normandie trouvent leur clientèle. Priorité aux AOC pour les fromages au lait cru. Agreste Primeur (189). En Línea: <http://agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/primeur189.pdf>. Consultado 6 abril, 2015.
- ASERCA-SAGARPA. (2010). Programa Nacional Pecuario 2007-2012. Claridades agropecuarias. 207: 34-43.
- Berestford T. (2007). What factors affect microbial growth in cheese? In: McSweeney P.H.L. (ed.). *Cheese problems solved*. CRC Press. USA. p.p.119-123.
- Berestford T.P., Fitzsimons N.A., Brennan N.L.M. (2001). Recent advances in cheese microbiology. *International Dairy Journal* 11: 259-274.
- Caplice E., and Fitzgerald G.F. (1999). Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology* 50: 131 – 149.
- Caro I., Mateo J., Sandoval M. H., Soto S., García-Armesto M. R. and Castro J. M. (2012). Characterization of Oaxaca raw milk cheese microbiota with particular interest in *Lactobacillus* strains. *Journal of Dairy Science* 96: 3461–3470.
- Castro M.A. (2012). Determinación de la microbiota mesófila aerobia, coliforme y patógena (*Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*) de Queso Adobera “de mesa” de Soyatlán del Oro, Atengo, Jalisco. Tesis de Licenciatura. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo, México.
- Cervantes E. F. y Villegas G. A. (2011). La genuinidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales mexicanos. *Estudios Sociales*. 19 (38):147-164.

- Cervantes E. F., Villegas G. A., Cesín V. A. y Espinoza O. A. (2008). Los quesos mexicanos genuinos: un saber hacer que se debe rescatar y preservar. Editorial Mundi Prensa. México. 186 p.
- Cervantes F., Santoyo H. y Álvarez A. 2001. Lechería familiar. Factores de éxito para el negocio. Plaza y Valdés, UACH, CUESTAAM Y CONACYT. México. 230 p.
- Colón H.M.L., Morales G.J.C., Máximo A.F.S. y Acosta B.A.P. (2014). Evolución de la calidad microbiológica de quesos panela y Oaxaca. *Industria Alimentaria* 36(4): 62-69.
- Cunyngham A. y J. Dennos 2007. Pourquoi peut-on faire confiance aux fromages au lait cru. En línea : http://www.realmilk.com/rely-on-raw-cheeses_fr.html. Fecha de consulta 30 de agosto de 2007.
- D'Amico D.J. and Donnelly C.W. (2010). Microbiological quality of raw milk used for small-scale artisan cheese production in Vermont: Effect of farm characteristics and practices. *Journal of Dairy Science* 93:134–147.
- De Keersmaecker S. C. J., Verhoeven T. L.A., Desair J., Marchal K., Vanderleyden J. and Nagy I. (2006). Strong antimicrobial activity of *Lactobacillus rhamnosus* GG against *Salmonella* thyphimurium is due to accumulation of lactic acid. *FEMS Microbiol Lett* 259: 89–96.
- Desmasures N. and Beuvier E. (2011). Nature et quantité de microflores des laits. In: Laitier C. editor. *Microflore du lait cru*. Francia : CNAOL-Institute de l'Elevage : 8-17.
- Dillon V. M. (2014). Preservative effects during storage. In: Batt C. A. and Tortorello M. L (ed.). *Encyclopedia of food microbiology*. Academic Press, Elsevier. USA. Vol. 2. pp: 721-727.
- Donnelly C. W. (2004). Growth and Survival of Microbial Pathogens in Cheese. In: Fox P. F., McSweeney P. L. H. and Cogan T.M. *Cheese chemistry, physics and microbiology. General Aspects*. Vol. 1. Third edition. Elsevier Academic Press. USA. pp: 541-560.
- Escobar R.M., Pérez E.D., Mejía R.F., Ávila V.D.A., Arvizú M.V., and Nava G.I. (2012). Microbiological profile of two artisanal mexican cheeses during manufacturing process [abstract]. *Journal of Food Protection* 75 (supplement 1): 136.

- FAO, (2015b). Base de datos FAOSTAT. En línea: www.fao.org. Fecha de consulta: 15 de noviembre de 2015).
- FAO. (2015a). Producción y productos lácteos. Producción lechera. En línea: <http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/produccion-lechera/es/#.VkgQ7EaFCSE> Fecha de consulta: 15 de noviembre de 2015.
- Fox P.F., Guinee P.T., Cogan M.T., Mc-Sweeney L.H. (2000). *Fundamentals of Cheese Science*. Maryland, USA: ASPEN Publication. 557 p.
- Giménez A., Ares F, and Ares G. (2012). Review: Sensory shelf-life estimation: A review of current methodological approaches. *Food Research International* 49: 311–325.
- González A.C.C. (2009). Caracterización fisicoquímica, microbiológica, reológica y sensorial de Queso de Poro de la Región de los Ríos Tabascos. Tesis de Maestría. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo, México.
- Grappin R. and Beuvier E. (1997). Review: Possible implications of milk pasteurization on the manufacture and sensory quality of ripened cheese. *International Dairy Journal* 7: 751-761.
- Grass R J. C. (2010). El enfoque de sistemas agroindustriales. *Análisis del medio rural latinoamericano* 56: 126-136.
- Hough G. (2010). *Sensory shelf life estimation of food products*. CRC Press, Taylor & Francis Group. USA. pp: 237.
- Hough G., Langohr K., Gómez G., and Curia A. (2003). Survival analysis applied to sensory shelf life of foods. *Journal of Food Science* 68(1): 359- 362.
- IFST (1993). *Shelf life of foods: Guidelines for its determination and prediction*. London: Institute of Food Science and Technology.
- INEGI. (2015). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos Reyes Etla, Oaxaca. En línea: www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos/20/20077.pdf Fecha de consulta: 17 de febrero de 2015.
- Irlinger F. and Mounier J. (2009). Microbial interactions in cheese: implications for cheese quality and safety. *Current Opinion Biotechnology* 20:142–148.

- Kilcast, D. y Subramaniam, P. (2000). The stability and shelf-life of food. Woodhead Publishing Limited. England. p: 339.
- Kim J. and Marshall D. L.(2000). Lactic acid inactivation of Salmonella Typhimurium attached to catfish skin. Journal of Food Safety 20: 53-64.
- Kindstedt P. S. (2007). What are pasta-filata cheeses and what physicochemical changes occur during cooking/stretching? In: McSweeney P.H.L. (ed.). Cheese problems solved. CRC Press. USA. pp: 300-301.
- Kleinbaum, D. G. 1996. Survival analysis: A self-learning text. New York: Springer-Verlag Inc.
- Kosikowski F. (1977). Cheese and fermented milk foods. Segunda Edición. Ed Edward Brothers. Michigan, Estados Unidos.
- Lawless H. T. and Heymann H. (2010). Sensory evaluation of food. Second edition. Springer. USA. pp: 596.
- Licitra G. (2010). Worldwide traditional cheeses: Banned for business? Dairy Science and Technology 90: 357-374.
- Mahaut M., Jaentet R., y Brulé G. (2001). Introducción a la tecnología quesera. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S. A.
- Mariscal A., V. Estrella Q.; A. Ruiz F.; M. Sagarnaga V.; J.M. Salas G.; M. González cadena productiva de bovinos lecheros y el TLCAN. (2004). Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México.
- Martínez V. H. S. (2011). Exploración de la microbiota coliforme y patógena de queso de Poro de Balancán, Tabasco. Tesis de Licenciatura. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo, México.
- Montaño S. E. (2012). Evolución de la microflora bacteriana mesófila aeróbica y coliforme, y detección de patógenos en Queso Panela de Soyatlán del Oro, Atengo, Jalisco. Tesis de Licenciatura. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo, México.
- Montel M. C., Buchine S., Mallet A., Delbes-Paus C., Vuitton D. A., Desmasures N. and Berthier F.(2014). Traditional Cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. Review. International Journal of Food Microbiology 177:136-154.

- Núñez Hernández A. (2007). La denominación de origen: su aplicación potencial en quesos mexicanos. Tesis profesional. Chapingo, México. 128 p.
- Özer, B. and H. Yaman. 2014. Microbiology of Liquid Milk. In: Batt, C. A., and M. L. Tortorello (eds.). Encyclopedia of food microbiology. Vol. 2. Academic Press, Elsevier. pp: 721-727.
- Pérez P. F. and Bucio GA. (2010). Microbial safety of raw milk cheeses traditionally made at a pH below 4.7 and with other hurdles limiting pathogens growth. In: Mendez VA editor. Current Research, Technology and Education Topics in Applied and Microbial Biotechnology. Badajoz, España: Editorial Formatex 2(2): 1205-1216.
- Pintado M., Gomes-da-Cruz A. and Zacarchenco-Rodriguez-de-Sá P. B. (2015). Cheese Microbiology. In: Özer B. H. and Akdemir-Evrendilek G. (ed.). Dairy microbiology and biochemistry: Recent developments. CRC Press. USA. pp: 113-133.
- Poméon, T. y F. Cervantes (2010). El sector lechero y quesero en México de 1990 a 2009: entre lo global y local. Reporte de Investigación (89): 1-47.
- Quirasco B. M. (2008). "El Queso Cotija, Caracterización Integrada ¿Realmente está dentro de los mejores del mundo?". Conferencia en Facultad de Química UNAM, México.
- Rangel O. S., Corzo C. E., Aguilera A. A., González C. A., y Vallejo C. B. (2011). Queso Crema de Chiapas (Caracterización química y microbiológica). 2do Congreso Internacional de la Leche. Chiapas, México.
- Ross R. P., Morgan S. and Hill C. (2002). Preservation and fermentation: past, present and future. International Journal of Food Microbiology 79: 3-16.
- Ryser E.T. (2012). Safety of dairy products. In: Oyarzabal O. A., Backert S. (ed.). Microbial food safety: an introduction. USA, Springer. pp: 127-145.
- SAGARPA (2000) Situación actual y perspectivas de la producción de leche de ganado bovino en México 1990-2000. Dirección General de Ganadería. México, México. En línea: www.sagarpa.gob.mx/Dgg/FTP/sitlech99.pdf. Consulta: 21 de abril de 2014.
- SAGARPA-SIAP. (2015a). Boletín de leche Julio-Septiembre 2015, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. En línea: <http://www.siap.gob.mx/wp->

content/uploads/BoletinLecheJulio-Septiembre_2015.pdf (Fecha de consulta: 15 de noviembre de 2015).

SAGARPA-SIAP. (2015b). Panorama de la lechería en México. http://www.siap.gob.mx/wp-content/uploads/boletinleche/b_lecheene2015.pdf (Fecha de consulta: 15 de noviembre de 2015).

Schillinger U., Geisen R. and Holzapfel W. H. (1996). Potential of antagonistic microorganisms and bacteriocins for the biological preservation of foods. *Trends in Food Science & Technology* 71: 158-164.

Secretaría de Economía. (2012). Análisis del sector lácteo en México. Dirección General de Industrias Básicas. México.

Secretaría de Salud. (2010). NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

Vélez-Zea J. M., Gutiérrez-Ramírez L.A y Montoya-Campuzano O. I. (2015). Evaluación de la Actividad Bactericida de Bacterias Ácido Lácticas Aisladas en Calostro de Cerdas Frente a *Salmonella typhimurium*. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín* 68(1): 7481-7486.

Villegas G. A. (2004). Tecnología Quesera. Editorial Trillas. México. 398 p.

Villegas de Gante A., Cervantes E. F y Altamirano C. J. R. (2010). Marco conceptual para el estudio de la agroindustria mexicana. En: *Agricultura, Ciencia y Sociedad Rural 1810-2010. Vol II. Agroindustria, Comercio y Mercados* (Coord. Valle G. S). Editorial Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México, México. pp: 23-47.

Walstra P., Wouters J. T. M., and Geurts T. J. (2006). *Dairy science and technology*. CRC Press. USA. pp: 763.

Wang C, Chang T., Yang H. and Cui M. (2015). Antibacterial mechanism of lactic acid on physiological and morphological properties of *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control* 47: 231-236.

CAPÍTULO 1. EL SISTEMA AGROINDUSTRIAL LECHE – QUESILLO DE REYES, ETLA, OAXACA

EL SISTEMA AGROINDUSTRIAL LECHE – QUESILLO DE REYES, ETLA, OAXACA

THE MILK-QUESILLO CHEESE FROM REYES, ETLA, OAXACA AGROINDUSTRIAL SYSTEM

Márquez Roa Laura Martin¹ y Villegas de Gante A²

RESUMEN

El Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, posee características sensoriales y de tipicidad que lo diferencian del producido en el resto del país. Esto se corroboró mediante el estudio del sistema agroindustrial (SAI) leche – Quesillo. La leche de proceso no presentó diferencias estadísticas en la composición ni en la calidad microbiológica. Ésta presentó una adecuada calidad composicional, pero también una alta carga de microorganismos.

ABSTRACT

Quesillo cheese from Reyes, Etlá, Oaxaca, has sensory and typicity characteristics that differentiate it from Oaxaca cheese produced elsewhere in Mexico. This was confirmed by conducting a study of the milk-Quesillo cheese agroindustrial system. The milk used in the process showed no statistical differences in composition or microbiological quality. Suitable compositional quality and elevated total mesophilic count in raw milk were presented

Palabras clave: Sistema agroindustrial, Quesillo, proceso de elaboración.

Keywords: Agroindustrial system, Quesillo cheese, cheesemaking process.

¹. Tesista

² Director

1. INTRODUCCIÓN

La agroindustria rural latinoamericana elabora una amplia variedad de productos alimenticios, que aún mantienen autenticidad y originalidad ligadas a las circunstancias sociales, culturales y de disponibilidad local de recursos naturales. Por su parte, los consumidores conocen estos productos pero no tienen mayor garantía sobre su origen o su composición y forma de elaboración, excepto por la confianza que le tienen al productor o al comerciante (Oyarizún *et al.*, 2002; Prigent-Simoin y Hérault-Fournier, 2005).

México posee un valioso patrimonio gastronómico y cultural constituido por sus quesos genuinos, artesanales e industriales. Además de que, la quesería artesanal reviste gran relevancia, no solamente porque elabora un producto de reconocidas bondades nutricionales y gustativas, sino por su capacidad para generar y mantener el empleo rural para un gran número de agentes de la cadena agroindustrial leche; esto es: ganaderos, queseros y comerciantes (Cervantes y Villegas, 2011).

La agroindustria quesera informal (AIQI) tiene como fortalezas la flexibilidad, su capacidad para explotar mano de obra con bajos costos, el bajo nivel de inversión, su capacidad para captar leche barata con exigencias menores de calidad, y el uso de sustitutos de leche para abaratar costos. Aunque se ha observado que la producción de

quesos adulterados favorece, sobre todo a las agroindustria quesera formal. Por otro lado, el cambio tecnológico puede representar el fin de la economía informal. La ventaja de la AIQI, reside en la producción de quesos tradicionales que constituyen un nicho de mercado, a reserva de cumplir con un mínimo de calidad sanitaria (Pomeón y Cervantes, 2008).

De acuerdo al Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática el volumen de queso fresco vendido en México en 2005 fue de 76,696 toneladas con un valor en ventas totales de 2,700 millones de pesos. El mismo año, el volumen vendido de queso Oaxaca fue de 16,723 toneladas con un valor en ventas totales cercanas a los 800 millones de pesos, representando 21.8 % y 29.4 % respectivamente. Sin embargo, los datos están relacionados con la producción industrial de queso Oaxaca vendido a través de canales formales de comercialización. Debido a que es un alimento artesanal, no existen reportes con información confiable respecto a la cantidad de queso Oaxaca producida en talleres no industrializados ni respecto a la cantidad vendida en México (Dominguez-López *et al.*, 2011).

Por su proceso de elaboración, es posible diferenciar al queso genuino artesanal denominado “Quesillo”, que se elabora en la localidad de Reyes, Etla, Oaxaca, del queso Oaxaca comercial, que se produce en el resto del país (Villegas *et al.*, 2014). El Quesillo genuino es muy apreciado por los consumidores quienes lo demandan a pesar de que su precio, de 120 pesos por kilogramo para el mes de abril de 2015, es más alto que el del queso Oaxaca comercial, de alrededor de 60 pesos por kilogramo. Es importante hacer notar que es elaborado a pequeña escala en pequeñas queserías, y constituye un medio

de subsistencia para muchas personas, incluyendo a los queseros, ganaderos, expendedores y sus familias, en virtud de los encadenamientos productivos.

En el presente trabajo se abordó el estudio del Sistema agroindustrial leche-Quesillo de Reyes Etlá Oaxaca. Lo anterior con la finalidad de hacer un diagnóstico de la situación del sistema producto, para conocer el grado de tecnificación, así como las relaciones existentes entre los eslabones del sistema de producción.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Metodología del estudio del sistema agroindustrial (SAI)

El estudio del sistema agroindustrial leche-quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, se realizó mediante la aplicación de entrevistas abiertas y de encuestas estructuradas, a ganaderos y queseros pertenecientes a la Unión de Productores Auténticos de Queso y Quesillo de Reyes, Etlá S. A. de C. V. en la época de lluvias (abril de 2014). Dicha información fue validada con visitas a las producciones ganaderas y a las queserías de Reyes, Etlá (La identificación de éstas aparece en Anexos), las cuales fueron seleccionadas de acuerdo a la disponibilidad y disposición de las personas.

Se aplicaron dos encuestas, la primera fue para establecer el perfil de los queseros y para caracterizar el proceso de producción del queso, y la otra para definir el sistema de producción y comercialización de leche.

Del total de queseros pertenecientes a la Unión (12) se encuestó a ocho, además se observó el proceso de elaboración del queso desde la recepción de la leche hasta su comercialización, así como los ingredientes, recipientes y utensilios usados durante su manufactura. Las visitas a los ranchos incluyeron la observación del proceso de ordeña, y el cuidado de las vacas en producción.

2.2. Características de la leche usada para la elaboración del queso

En cada quesería y por cada uno de los cinco lotes de Quesillo, se colectaron dos muestras de 100 mL de leche, proveniente de los recipientes en donde realizó su recepción y en los que posteriormente se cuajó, se coló y se fermentó la cuajada. Una de las muestras se utilizó para la determinación de la cuenta de bacterias mesófilas aerobias, mientras que a la otra se le adicionó 0.08 g de dicromato de potasio para transportarse a la Universidad Autónoma Chapingo, lugar donde se determinó de la composición proximal.

La toma de muestra de la leche se realizó asépticamente, se utilizaron guantes estériles, cofia y cubreboca. La leche se colocó en vasos estériles de plástico de 100 mL y se mantuvo bajo refrigeración (4-8 °C) hasta su análisis. El tiempo entre el muestreo de la leche y el análisis microbiológico fue de 1 a 4 horas.

El contenido de la proteína, de los sólidos no grasos, de la grasa y de los sólidos totales se cuantificó mediante el análisis con infrarrojos por transformada de Fourier con el equipo MilkoScan™. La temperatura de la leche se elevó a 36 °C previo a su análisis.

Se determinó la cuenta de bacterias mesófilas aerobias mediante el empleo de placas 3M™. La preparación de las diluciones y la siembra para el conteo microbiológico se realizaron en un área cerrada, la superficie a utilizar se limpió y se desinfectó con alcohol al 70 %. La dilución de 10^{-1} se obtuvo al agregar 10 mL de leche a un frasco que contenía 90 mL de agua peptonada al 0.1 % estéril. Las diluciones de 10^{-2} a 10^{-6} se

efectuaron en tubos “Vacutainer”, de vidrio con 10 mL de capacidad, que contenían 9 mL de agua peptonada al 0.1 % estéril. Una vez realizadas las diluciones se realizó la siembra, por triplicado, de las diluciones 10^{-4} , 10^{-5} y de 10^{-6} de acuerdo a la NOM-092-SSA1-1994 (con modificación en Placa Petrifilm ®).

2.3. Proceso tecnológico

En las queserías, se observaron a detalle los pasos que se siguen en la fabricación del Quesillo, que incluyen desde la recepción hasta la formación de la madeja. Además, se monitoreo la temperatura que recibe la masa quesera durante el amasado. Con esta información se elaboró un diagrama de bloques general del proceso de producción del queso especificando algunas diferencias importantes encontradas entre los métodos de las queserías.

2.4. Análisis estadístico

Para el análisis de la calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche se utilizó un diseño en bloques completos al azar con arreglo de parcela dividida (Montgomery, 1991), en donde la parcela mayor fue la época del año y la parcela menor fue la quesería. La unidad experimental fue de 100 mL de leche. Para identificar diferencias significativas se realizaron comparaciones de medias ($\alpha=0.05$) con la prueba de diferencia de medias de Tukey. Para el procesamiento de los datos se utilizó el paquete estadístico SAS versión 9.1 (SAS Institute, Inc., Cary, NC).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Historia

La localidad de Reyes, Etlá, Oaxaca es considerada como la “cuna del Quesillo”, cuya elaboración se remonta al año de 1885. Según narran sus pobladores, en especial los maestros queseros, es en ese año cuando los padres de la niña Leobarda Castellanos García, de 14 años de edad, le encomendaron cuidar el cuajado de la leche. Pero la pequeña descuidó la encomienda y al revisar la cuajada ésta no tenía la consistencia adecuada para elaborar el queso. Al darse cuenta de su error trató de solucionarlo vaciando agua caliente sobre la pasta, esto originó que se fundiera y generó una pasta “chiclosa”, a la cual posteriormente se le llamó Quesillo. Los padres de la pequeña probaron esta pasta y notaron que tenía un sabor agradable, por lo que empezaron a elaborar un queso repitiendo esa técnica. Poco a poco el "Quesillo" ganó una gran aceptación entre la población y su consumo se difundió hacia otras regiones y al resto del país (Dominguez-López *et al.*, 2011).

3.2. El Sistema Agroindustrial Leche-Quesillo

El Sistema Agroindustrial Leche-Quesillo de Reyes Etlá está integrado por los productores primarios (ganaderos), los queseros y los comerciantes, es un sistema abierto; la interacción de los eslabones de la producción es estrecha. La relación de las

queserías con el eslabón primario es coordinada e integrada. No existen intermediarios conocidos, como boteros, entre el eslabón primario y secundario. Además, al ser una producción estabulada, se requiere de la producción de forrajes, misma que es llevada a cabo por los propios lecheros.

En los últimos años, la interacción entre los productores y los agentes de soporte se ha incrementado. En ésta destaca la vinculación con instituciones de educación superior, con las que se ha trabajado en la búsqueda del reconocimiento y la valorización del producto por parte de la población y las instituciones gubernamentales. También se han implementado cursos de capacitación, a través de los cuales se ha promovido el uso del termómetro para el control de la producción, así como del lactodensímetro para monitorear la calidad de la leche; empero, los productores no lo han adoptado. Se trabaja, principalmente, en colaboración con la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM) y con la Universidad Autónoma Chapingo (UACH), específicamente con el Instituto de Alimentos (IDEA) del Departamento de Ingeniería Agroindustrial, que han desarrollado trabajo de investigación encaminado a la obtención de la Marca Colectiva, cuyo registro se realizará ante el IMPI. Otras instituciones educativas con las que se ha trabajado, principalmente, recibiendo apoyo con actividades durante la Feria de Quesillo son la Universidad Tecnológica de Valles Centrales Oaxaca (UTVCO) y el Instituto Tecnológico de Oaxaca (ITO).

Dentro de la SAGARPA, se tiene un programa de apoyo relacionado con la producción pecuaria, denominado Programa de Fomento Ganadero (PROGAN) productivo 2014. La Secretaría de Economía, es otro agente de soporte que ha apoyado

al eslabón secundario mediante el otorgamiento de equipo y con la obtención del código de barras.

Fuera de la frontera del sistema se ubican los proveedores para la producción primaria, que incluyen a las veterinarias, a vendedores de alimentos balanceados y de fertilizantes. Para la transformación se tiene a los proveedores de insumos (sal, cuajo, materiales de envase, etc.) y de maquinaria.

La mayor parte de los queseros tienen algún punto de venta en el mercado local o tienen clientes específicos a quienes entregar el Quesillo. Algunas queserías envían su producto a la Ciudad de México y a Monterrey, Nuevo León; varios queseros entregan queso a intermediarios, quienes lo etiquetan y venden bajo su propia marca.

En la Figura 1 se muestra una representación del sistema agroindustrial (SAI) Leche/Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca.

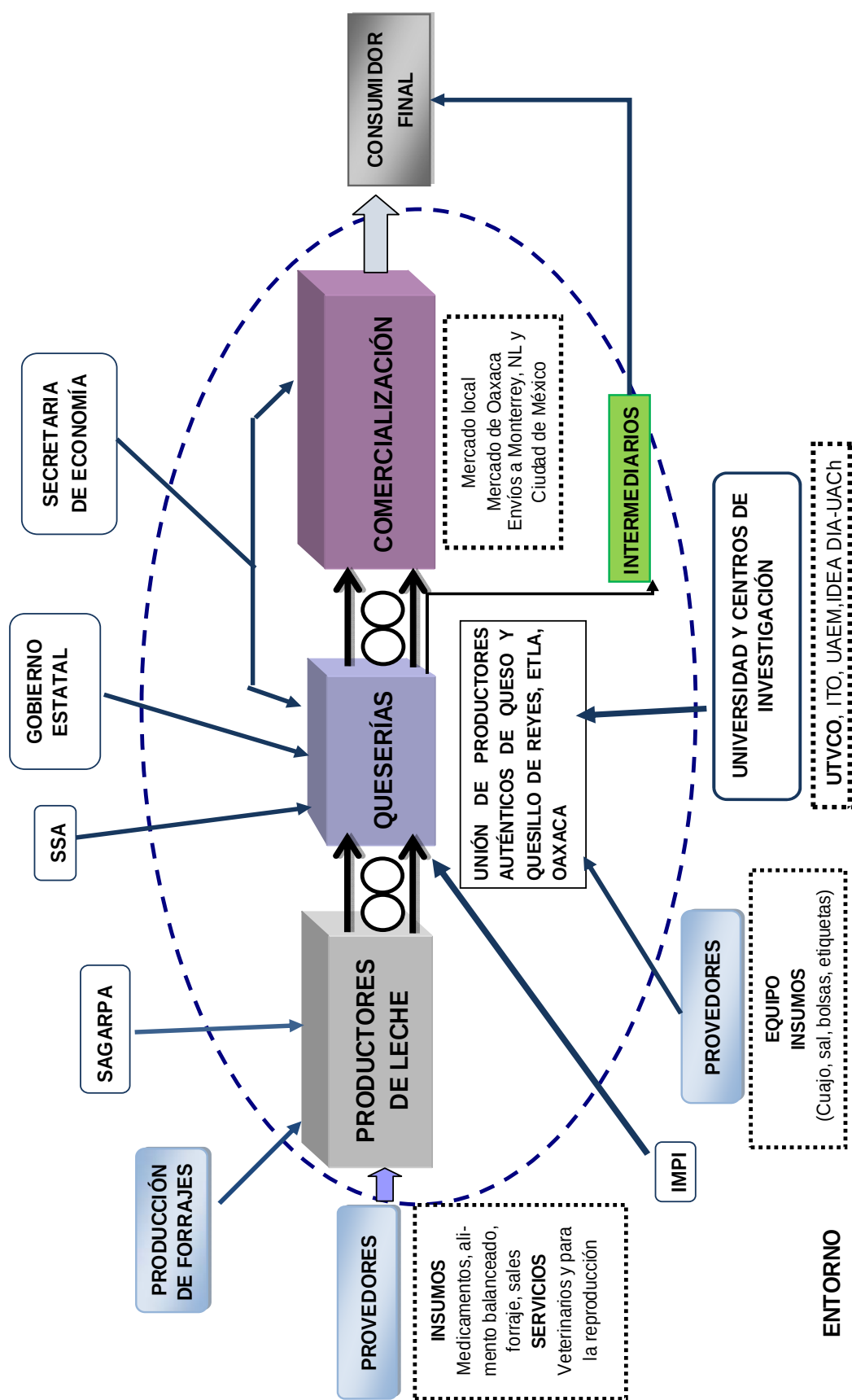


Figura 1. Representación del sistema agroindustrial leche-Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca.

3.2.1. Eslabón primario: Los productores de leche

En el Cuadro 1 se enlistan algunos parámetros importantes sobre la conformación y manejo del hato. Las razas de ganado empleadas son holstein, jersey y pardo suizo.

Cuadro 1. Principales características de las unidades de producción lechera en Reyes, Etla, Oaxaca (n = 6; promedio $\pm$ desviación estándar).

Característica	Intervalo	%	Intervalo	%	Media
Cantidad de vacas (cabezas)	4-18	N.A.	N.A.	N.A.	10.33 $\pm$ 4.84
Número de vacas en ordeño	4-9	N.A.	N.A.	N.A.	5.67 $\pm$ 2.25
Tipo de ordeño	Mecánico	33.33	Manual	66.67	N.A.
Ordeños por día	2	N.A.	N.A.	N.A.	2
Producción diaria/vaca (L/vaca)	10-18	N.A.	N.A.	N.A.	13.33 $\pm$ 3.44
Técnica para bajada de la leche	Ninguna	66.67	Becerro	33.33	N.A.
Pruebas de detección de mastitis	Inspección visual	83.33	Prueba de california	16.67	N.A.
Sellado	Si	83.33	No	16.67	N.A.

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

El tipo de explotación lechera es familiar, de traspatio, en las que su crecimiento se limita debido a que carecen de una mayor superficie para la producción. Dos productores poseían instalaciones subutilizadas, empero no se aumenta el tamaño del hato por la carencia de recursos económicos para sostener la alimentación del ganado. Algunos aspectos de la producción lechera se observan en la Figura 2.



Figura 2. Establos productores de leche en Reyes, Etlá, Oaxaca.

En varios de los ranchos la disminución de la producción coincidió con la crisis económica, ocurrida a inicios de la década de 1990 en México. Esto debido a que se tenían préstamos que después de la devaluación aumentaron en más del 100 %, razón por la cual los lecheros tuvieron, que vender parte del hato. Un ejemplo es el rancho Corpus Cristi, que a la fecha sólo cuenta con 4 vacas en ordeño, cuando tuvo hasta 70 vacas en producción.

No se realiza control de tuberculosis, ni de brucelosis, para verificar la sanidad del hato. Como manejo sanitario se realiza la desparasitación, y aplicación de antibióticos y vitaminas. Los ganaderos afiliados a la Unión de Productores Auténticos de Queso y Quesillo de Reyes, Etla S. A. de C. V. cuentan con la asistencia técnica de un médico veterinario.

En el 63 % de las lecherías la producción se destina a la elaboración de queso, las restantes la venden a los queseros de la Unión. No se realizan pruebas de calidad a la leche. Los ganaderos consideran que el precio de la leche ($7.5 \$\cdot L^{-1}$ para abril de 2014) es bajo, si se compara con el aumento en el costo de la alimentación, mismo que según la Secretaría de Economía (2012) representan un 65 % del costo total de la producción de leche. Esto aun cuando el precio pagado en la zona es superior al precio promedio nacional ($5.53 \$\cdot L^{-1}$) y al estatal ($5.74 \$\cdot L^{-1}$) reportado para el año 2013 (SAGARPA-SIAP, 2015). No hay estacionalidad de la producción lechera. No se establecen convenios de venta entre las lecherías y las queserías. En el 63 % de los ranchos la producción de leche se ha vendido al mismo cliente durante más de 25 años. El 16 % refiere estar inscrito en el PROGAN.

3.2.2. La actividad quesera

En el Cuadro 2 se enlistan algunas variables importantes de producción en las queserías. El bajo volumen procesado se vincula a que las unidades lecheras dentro del municipio y en localidades cercanas son pequeñas y escasas.

Cuadro 2. Características de la producción de Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca (n = 8; promedio $\pm$ desviación estándar).

Característica	Intervalo	%	Intervalo	%	Media
Antigüedad de producción (años)	8-21 22-34	25 25	35-47	50	30.8 $\pm$ 12.4
Litros procesa por día	40-227 228-414	62 13	415-601	25	258.1 $\pm$ 230.4
Precio de la leche (\$/L)	7	87.5	7.5	12.5	77.5 $\pm$ 0.2
Proveedores de leche	1-4	75	9-12	25	3.9 $\pm$ 4.3
Abastecimiento de leche	Autoabastecimiento Compra el 100%	25 50	Ambos	25	N.A.
Relación con el eslabón primario	Coordinado Integrado	62.5 25	Ambos	12.5	N.A.
Prueba de calidad (leche)	Rendimiento quesero	25	Ninguno	75	N.A.
Producción semanal de Quesillo (kg/semana)	4-96 97-188	75 12.5	189-280	12.5	66.4 $\pm$ 98.3
Productos elaborados por quesería	Queso fresco Quesillo Requesón Botanero	100 100 50 37.5	Crema Mantequilla Yogur	25 12.5 25	N.A.
Frecuencia semanal de producción de Quesillo	7 3	50 25	2 Por pedido	25 100	N.A.

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

Algunas de las queserías compran más leche durante los meses de abril y diciembre, por presentarse un aumento de la demanda de Quesillo. Se prioriza que la leche adquirida para la producción de Quesillo sea de la región, pues consideran que le da características únicas al producto y es parte de su tipicidad. No se utilizan instrumentos de medición para verificar la calidad de la leche, no obstante un 25 % de los queseros la corrobora mediante el rendimiento quesero. Además, se han percatado que la leche adulterada con agua genera una cuajada débil y menor rendimiento.

No se notó la presencia de intermediarios, conocidos como boteros, entre el eslabón primario y secundario. Se menciona, que llega un camión proveniente de Veracruz, que abastece de leche; no se mencionó cuantas veces a la semana arriba y se desconoce la procedencia exacta. Esta leche no se utiliza como materia prima para Quesillo, ya que se ha notado que no fermenta adecuadamente por lo que no se consigue la textura ni las características típicas del producto.

El 100 % de las queserías elaboran Quesillo genuino, por lo que se procesa leche fluida, sin extensores, ni adulterantes (v. g. almidón y grasa vegetal). En este sentido, una productora mencionó que le propusieron aumentar su rendimiento mediante el uso de extensores; sin embargo, no adoptó esta práctica por considerarlo un fraude para sus clientes, misma que llevaría a la pérdida de la confianza y de la preferencia hacia sus productos.

No se realizan pruebas para verificar la calidad del Quesillo. Los queseros comentaron que la Secretaría de Salubridad, esporádicamente, toma muestras del producto; la Universidad Autónoma del Estado de México, ha analizado muestras.

La producción de Quesillo para las queserías visitadas es la principal o, en algunos casos, la única fuente de ingreso para las familias. En el Cuadro 3 se presentan algunas características relevantes sobre la mano de obra en las queserías. En unidades con más de dos personas ocupadas, estas no participan simultáneamente en la elaboración del Quesillo. En algunos casos, se contrata la mano de obra para la venta del producto. El empleo de personal eventual asalariado se realiza, principalmente, en la temporada alta de ventas.

Cuadro 3. Características relevantes sobre la mano de obra en las queserías de Quesillo en Reyes, Etlá, Oaxaca (n = 8; promedio $\pm$ desviación estándar).

Característica	Intervalo	%	Media
Personal ocupado	1-4	75	3.5 $\pm$ 2.1
	5-7	25	
Mano de obra	Familiar	75	
	Asalariada (contrato verbal)	25	
Aprendizaje de la técnica	Saber-hacer como herencia familiar	87.5	
	A prueba y error	12.5	
Sucesor	Ninguno	25	
	Hijos o hermanos	75	

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

El aprendizaje de la técnica para la elaboración de Quesillo es empírica, o por transmisión oral del saber hacer y se considera una herencia familiar. La mayoría de los maestros queseros (75 %) considera que continuará con la elaboración de Quesillo.

El grado de tecnificación para la elaboración de Quesillo es mínimo, la totalidad de los productores utiliza tinas de plástico para el cuajado y el malaxado de la cuajada. El amasado se realiza empleando una cuchara de madera. El corte de la cuajada se efectúa utilizando una pala de madera y el trabajo del grano se realiza con las manos, cuando es un volumen alto se emplea un agitador de acero inoxidable. Dos queserías realizan descremado de la leche, una de las cuales utiliza descremadora y la otra realiza descremado natural.

La fermentación, que es fundamental para la elaboración de este tipo de queso, está a merced de la microflora presente y de las condiciones ambientales. Se requiere del

establecimiento de tecnología que permita controlar el tiempo de fermentación por el impacto que este tiene sobre la calidad sanitaria del producto. Sólo una quesería refrigera la cuajada cuando alcanza el “punto” y la retira del frío hasta que se realizará el malaxado.

3.2.3. Comercialización

En el Cuadro 4 se concentran algunas características de la comercialización del Quesillo. La venta se realiza de forma directa al minorista y al consumidor final. La venta a crédito se basa en la confianza existente entre el quesero y los clientes, pues no se tiene un contrato por escrito que avale la transacción. Es perceptible el papel clave de la confianza en relaciones directas entre el productor y el consumidor. El destino de venta es local pero algunas empresas envían Quesillo al Distrito Federal y a Monterrey, Nuevo León.

Cuadro 4. Características relevantes de la comercialización del Quesillo en Reyes, Etlá, Oaxaca (n = 8; promedio $\pm$ desviación estándar).

Característica	Intervalo	%	Intervalo	%
Tipo de cliente	Comercios y restaurantes	25	Ambos	62.5
	Consumidor final	12.5		
Destino de venta*	Mercado de Etlá	62.5	Restaurantes de Oaxaca	25
	Misceláneas locales	50	Otros Estados	25
	Entrega a particulares u oficinas	25	Ambulante	12.5
	Mercado y tiendas de Oaxaca	37.5	Pedidos	75
Términos de transacción	Contado	62.5	Ambos	25
	Crédito	12.5		
Precio de venta (\$/ kg)	90	12.5	135	12.5
	120	75		

*Porcentaje de queserías que presentan un destino de venta, cada quesería puede tener más de un destino.
Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

Los queseros entrevistados pertenecen a la Unión de Productores Auténticos de Queso y Quesillo de Reyes, Etlá S. A. de C. V., integrada por 12 socios. Estos consideran como ventajas de la organización: la obtención de asistencia técnica; el apoyo a través de la Secretaría de Economía para la realización y la difusión de la Feria del Queso y del Quesillo; y, la vinculación con universidades y organismos de investigación para la caracterización del Quesillo, con miras a la obtención de la marca colectiva ante el IMPI.

3.3. Análisis del sistema agroindustrial

3.3.1. Grado de tecnificación

De acuerdo con lo descrito por Cervantes *et al.* (2001), el tipo de ganadería que se tiene en Reyes, Etlá, Oaxaca puede clasificarse como familiar, de traspatio. Se emplea tecnología en la reproducción del ganado, ya que se tiene mejoramiento genético a través de la inseminación artificial. Algunos productores utilizan el alimento balanceado que la Asociación produce; otros elaboran ensilado lo que les permite dar un alimento con mayor calidad nutricional. Es notable que la producción de forraje y alfalfa se realiza mediante el empleo de maquinaria, semillas mejoradas, manejo fitosanitario y riego, lo que revela que a pesar del tamaño de los predios se tiene un mediano grado de tecnificación.

En lo que atañe a la sanidad de los hatos, no se percibió resistencia al cambio, pues los ganaderos desean realizar pruebas para tuberculosis y brucelosis al ganado. Sin embargo, mencionan que antes de recurrir a la SAGARPA, desean realizar un manejo previo para la detección y erradicación de las vacas que pudieran padecer estas

enfermedades. Lo anterior debido a que la presencia de estas enfermedades llevaría a la cuarentena del hato y no podrían comercializar su producto, lo que les llevaría a abandonar la producción.

La agroindustria juega un papel importante en el desarrollo tecnológico del eslabón primario, pues permite al ganadero obtener un precio y un volumen de venta constante de la leche durante el año. Esto incentiva a buscar un aumento de la producción para satisfacer los requerimientos de calidad y volumen de los queseros. Lo anterior revela que se requiere de transferencia tecnológica para mejorar la producción. Sin embargo, el principal problema para el incremento del hato es el tamaño de la superficie disponible para forrajes. Otro aspecto que tiene un gran peso es el costo elevado del alimento.

La tecnificación en la elaboración del Quesillo es muy baja, debido volumen reducido de leche que procesan. El Quesillo se elabora desde hace más de 100 años de la misma manera, no se emplean instrumentos de medición ni equipo automatizado, únicamente se tiene el uso de descremadora mecánica en algunos casos. La tecnología que se aplica es empírica, puesto que sólo mediante la vista y probando el producto, se determina los puntos clave para la elaboración del Quesillo. Se observa resistencia al cambio, porque los productores de Quesillo que cuentan con instrumentos y equipo básico no lo utilizan, ya que argumentan que se tienen bajos volúmenes de leche que procesar.

Lo visto en las queserías visitadas indica que por ser artesanal y porque los queseros manejan el proceso a detalle, el nivel de tecnología que se requiere es mínimo. En este sentido, únicamente un quesero refrigera la pasta fermentada para su posterior

transformación en Quesillo, y otro realiza descremado mecánico. El proceso de acidificación se realiza de manera natural (por fermentación); está determinado por la microflora propia de la leche y por las condiciones ambientales prevalecientes. Sin embargo, el conocimiento empírico requerido para la elaboración de Quesillo, es determinante para la obtención de un producto cuyas características son reconocidas y apreciadas por los consumidores, quienes están dispuestos a pagar un sobreprecio de 40 pesos por kilogramo (abril del 2015) en comparación al queso denominado tipo Oaxaca.

3.3.2. Acceso a paquetes tecnológicos

La proximidad física, entendida como la cercanía entre las unidades de producción pecuaria, no ha permitido el acceso a paquetes tecnológicos; esto puede deberse a que no existe una vinculación ni organización entre ellos (proximidad organizacional), únicamente los productores que pertenecen a la Unión de Productores Auténticos de Queso y Quesillo de Reyes Etla S. A de C. V., se han favorecido por la atención de un médico veterinario. Lo anterior revela que el fenómeno de cercanía, por sí sólo, no es capaz de generar ventajas cuando no hay interacción entre los actores del eslabón.

Respecto a los agentes de soporte, se observó que a pesar de que existen apoyos como el PROGAN, algunos de los ganaderos desconocen las reglas de operación por lo que no pueden acceder a estos subsidios. En este sentido, la integración de sólo algunos de los productores a los programas revela la existencia de asimetría de la información. Tampoco se percibió la vinculación de los lecheros con centros de investigación o agencias gubernamentales.

En el eslabón secundario es posible observar proximidad física y organizacional. La proximidad organizacional se refleja en la integración de la Unión de Productores Auténticos de Queso y Quesillo de Reyes, Etlá S. A de C. V. Sin embargo, no se ha afianzado un auténtico grupo de trabajo y cohesionado. Además, se ha percibido cierta pérdida de liderazgo y descoordinación entre sus miembros, lo que pone en riesgo a la asociación.

La proximidad física no ha sido el detonante principal de los apoyos. Las acciones colectivas son escasas y muchas veces inexistentes, no todos los productores de Quesillo se vinculan para un fin común. Pareciera que la proximidad como apoyo a la producción está desplazada por intereses personales por encima de los grupales.

La Unión de Productores Auténticos de Queso y Quesillo de Reyes, Etlá S. A de C. V., ha favorecido la tecnificación de los productores que la integran. Sin embargo, ellos no utilizan el equipo obtenido de los apoyos. Esto revela la necesidad de la transferencia de paquetes tecnológicos completos, en los que la capacitación permita la adopción y aplicación de los conocimientos. Sin embargo, es primordial determinar las necesidades de innovación tecnológica, para que sean acordes a la realidad de producción sin afectar de forma drástica el saber hacer tradicional, sin poner en riesgo la tipicidad y de la genuinidad del producto.

Las acciones colectivas se han encaminado hacia la promoción del Quesillo, con la organización de la “Feria del Queso y el Quesillo”, a la obtención del código de barras, y a la vinculación con instituciones de educación superior y con la Secretaría de Economía, para la obtención de la Marca Colectiva. Empero, parece que se han

descuidado aspectos como la vinculación con el eslabón primario, para el incremento en la producción lechera, así como aspectos de Buenas Prácticas de Manufactura. Esto porque, a pesar de que no se han reportado casos de brotes epidemiológicos debido al consumo de Quesillo, se observan deficiencias en la higiene durante el proceso de elaboración. Es pertinente notar, que la utilización de leche cruda, no es el único parámetro que determina la calidad sanitaria del producto.

3.4. La genuinidad y la tipicidad del Quesillo de Reyes, Etlá

En la actualidad, en los mercados alimentarios de las sociedades modernas coexisten tanto alimentos muy procesados, producto de modernas tecnologías de elaboración, junto con alimentos tradicionales elaborados generalmente a escala artesanal y con una tecnología poco intensiva en capital y más basada en un saber empírico. En México es evidente la existencia de los dos tipos de alimentos, siendo los tradicionales fruto del mestizaje alimentario de los pueblos originarios y de los aportes de la cocina española durante la Conquista, y posteriormente; son la expresión, como dice Taibo I (1992), del “encuentro de dos fogones”.

Entre los alimentos tradicionales más notables, cuya raíz se halla en ese mestizaje, se encuentran los quesos genuinos, de procedencia española, pero que fueron diferenciándose y “mexicanizándose” con el paso del tiempo; desde el Siglo XVI hasta la actualidad. Estos quesos típicos forman parte de la riqueza gastronómica de nuestro país, pero debido a las tendencias innovadoras propiciadas por las nuevas tecnologías, al desconocimiento de los propios quesos por parte de los consumidores y a la falta de su valorización económica y sociocultural, enfrentan un riesgo de extinción gradual, cuyos

efectos negativos se dejarían sentir claramente en las cadenas agroalimentarias que los producen; es decir, en el sector lechero, agroindustrial y comercial.

La cultura mexicana cuenta con una gran variedad de quesos, inspirados al inicio por quesos españoles, probablemente traídos en la Conquista para su posterior mestizaje; un rasgo de éstos es el desmenuzado y el molido (con metate, o a mano) el salado en masa, el moldeado en tenate o moldes de madera, el prensado (opcional), con lajas, piedras o mecanismos rústicos. Los quesos mexicanos se caracterizan por ser elaborados con leche fluida y empleo mínimo de aditivos, lo único que les adiciona es cuajo y sal, por tal razón son considerados como quesos genuinos. Además de lo anterior los quesos mexicanos auténticos cuentan con fuertes raíces históricas arraigadas en la región; muchos de estos son elaborados de manera artesanal.

La variedad de los quesos genuinos mexicanos no es un asunto menor, ya que sin ser comparable con el mayor acervo de especímenes de países europeos famosos por sus quesos tradicionales, como Francia, Italia, España y Portugal, sí reúne una gama relativamente amplia de estos productos que aún no termina de conocerse; que no se ha explorado, ni caracterizado ampliamente.

Al respecto, ya se han identificado varios quesos mexicanos de las planicies templadas, del trópico (húmedo y seco), de las zonas montañosas y del desierto.

Los quesos mexicanos genuinos, como muchos alimentos tradicionales (v.g. panes, tortillas, dulces, productos cárnicos, bebidas fermentadas, entre otros) forman parte del patrimonio alimentario del país, lo que representa arraigamiento, identidad y afecto de muchas comunidades en los territorios de origen, y más allá de ellos.

Precisando, se considera a los quesos mexicanos genuinos como aquéllos elaborados solamente con leche fluida, de vaca o cabra, y que incorporan unos cuantos ingredientes permitidos para su hechura (v. g. cuajo y sal), apegados a los procesos tradicionales de elaboración y que han tenido presencia local o regional que data de décadas o siglos. Algunas características de los quesos artesanales son: el uso de leche cruda, el producto final posee un pH ácido, contiene una alta cantidad de sal y varios presentan baja actividad de agua (a_w).

De este tipo de productos, algunos ya estudiados científica y tecnológicamente por lo menos la última década, se reconocen unas 40 variedades; mas de difusión meramente local, otras de alcance regional, e incluso algunas de difusión nacional. En el catálogo destacan, por ejemplo el Cotija Región de Origen, el queso Chihuahua (menonita y no menonita), el queso crema de Chiapas, el queso de poro de Tabasco, el quesillo de Oaxaca, el queso asadero de Aguascalientes, etcétera (Villegas *et al.*, 2014).

A pesar de las cualidades que presentan los quesos mexicanos, existen muchas desventajas al compararlos con quesos de imitación, como el precio, la accesibilidad y la normatividad (NOM-243-SSA1-2010) que prohíbe el uso de la leche cruda, por lo que pierdan parte de su autenticidad.

La mayoría de los quesos tradicionales gozan de reputación, tanto local como regional, por contar con antecedentes históricos de mucho tiempo atrás; se encuentran muy arraigados a sus territorios de origen, también poseen una calidad muy distintiva por su forma, tipo de pasta, tamaño, cualidades sensoriales, etcétera, que diferencian en

gran medida a unos de otros. Por ejemplo, el queso Cotija Región de origen, el queso Chihuahua menonita, el queso bola de Ocosingo, etcétera.

Estos quesos forman parte de la cultura mexicana, por lo cual se les atribuye una gran importancia cultural; como parte del patrimonio gastronómico mexicano, están ligados a una cultura regional de su lugar de elaboración y contribuyen a la identidad de productores, queseros y consumidores; además aportan ingresos directos a los tres sectores involucrados en la cadena de producción, contribuyen al desarrollo territorial y a la estabilidad social, también su elaboración causa un bajo impacto ambiental y contribuyen a preservar la biodiversidad. Son en general, alimentos distinguidos susceptibles de lograr una forma de protección jurídico económica.

La marca colectiva (MC) y la denominación de origen (DO) en quesos mexicanos distinguidos son formas de protección jurídico - económica y sellos distintivos de alta calidad. En la actualidad, la vuelta a la naturaleza, el respeto a las tradiciones, la compra de lo local, o la conservación de la naturaleza y la diversidad se han envuelto consignas poderosas para fomentar el valor simbólico y material de una mercancía con DP o productos orgánicos.

La construcción de una DO constituye una oportunidad para los pequeños productores, artesanos y los agricultores en pequeña escala, organizados, de participar en los mercados actuales, en los cuales las grandes empresas agroalimentarias tienden a dominar. En un producto DO, por ejemplo un queso, posee reputación debido su autenticidad, origen y calidad, lo cual deriva en ganancias económicas y simbólicas para los productores. La denominación de origen evoca regiones y geografías, agricultura a

pequeña escala, así como sabores, aromas y conocimientos locales y ancestrales que corren riesgo frente a la producción en masa.

La denominación de origen es una Figura de protección jurídico - comercial de un producto cuya calidad se asocia a factores naturales y humanos de la región productora le brinda. Es concordante con el acuerdo de Lisboa (1958) y con la ley de propiedad industrial de México. Países como Francia, Italia, España y Grecia cuentan con numerosos denominaciones de origen protegida, en comparación con México, que no tiene ninguna por la pérdida de tipicidad.

Empero, la elaboración de quesos artesanales también requiere de la innovación ya que con el tiempo cambia sus características organizacionales, comerciales y financieras, con base en conocimientos que generan riqueza. Esto ha generado una gran controversia, puesto que al innovar comienzan a perder características distintivas propias de un queso artesanal. Muchos de los productores de quesos se resisten a cambiar por el temor de perder sus tradiciones y el prestigio de su producto.

La tipicidad de un queso genuino está compuesta por un conjunto de rasgos de diferente índole que conducen a que un producto sea específico, diferente a otro dentro de su misma especie; es decir la tipicidad se relaciona con la especificidad del queso, en este caso. Los rasgos considerados en el concepto de tipicidad incluyen por ejemplo el tipo de leche empleado (que se relaciona a la vez con el sistema de producción lechera que la original, el forraje o alimento que consume las vacas, la especie bovina, el manejo de ganado, etc.), el proceso técnico de producción, con todas sus particularidades, el significado o simbolismo que producto tiene para los consumidores, etcétera. Lo

anteriormente abordado tiene relevancia al tratar del caso del Quesillo objeto de estudio de esta investigación.

En el caso específico del Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca, se perciben concretamente los siguientes rasgos de su tipicidad:

- La leche con que se elabora, de ganado holstein rústico o holstein mezclado con ganado criollo, en un sistema de lechería familiar, de traspatio.
- El empleo de leche cruda
- El proceso que incluye a menudo la adición de un cultivo láctico rústico (leche fermentada previamente) a la leche de proceso, o el empleo de un serofermento elaborado previamente.
- Una fermentación de la pasta muy prolongada (durante horas) que se traduce en el descenso del pH (del orden de 5.1 a 5.4) hasta un punto adecuado para que, por adición de agua caliente, se logre la plasticidad de la masa, su estirado e hilado.
- Los sabores propios, típicos, relativamente fuertes característicos de una pasta muy fermentada por la microflora láctica.
- El “formateo” de la banda o tira de la pasta quesera en forma de una madeja, o bola, que muestra un “ombligo” característico que lo diferencia de los quesillos o quesos Oaxaca de otras regiones.
- La conservación del producto en cadena de frío, que mantiene sus características de calidad integral específicas por al menos una semana.
- Su procesamiento muy artesanal, durante horas, que requiere atención esmerada y pericia para manejar e hilar la pasta.
- Una tradición de más de un siglo del producto, con calidad territorial.

- Su producción limitada.
- Las propias condiciones de artesanidad en su producción.
- El significado simbólico / afectivo entre los consumidores locales y visitantes de Reyes, Etla, y de la ciudad de Oaxaca.

Es precisamente, este conjunto de especificidades de su tipicidad lo que puede proporcionarle a este notable producto un mayor agregado durante su circulación. Asimismo su calidad integral y su tipicidad pueden favorecer, si se realizan acciones colectivas por diferentes agentes de las cadenas productivas, la obtención de una Figura de protección jurídico - económica (v. g. una Marca Colectiva con referencia geográfica) que favorezca su preservación a largo plazo; esta preservación sólo tendrá sentido en el mercado, mientras que se produzca, venda y distribuya este queso distinguido.

En este sentido, la “Unión de Productores Auténticos de Queso y Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca”, es una empresa integradora conformada por lecheros y productores de queso, que buscan una marca colectiva para proteger su producto y el prestigio que lo distingue.

3.5. Significado del Quesillo para los queseros

Como pregunta adicional, se cuestionó a los queseros sobre el significado personal que tiene el Quesillo, encontrando lo siguiente:

- ***“Es un arte. No donde quiera, ni cualquiera lo puede hacer.”*** Joel Santiago Pinelo.
- ***“Orgullo de nacer en la tierra donde se inventó”.*** Francisco Pinelo Gómez.

- ***“Fuente de trabajo de forma tradicional, arraigo del producto.”*** Adalberto López Castellanos.
- ***“Identidad de los productores. Reyes es la cuna del Quesillo”.*** Lorenzo Reyes.
- ***“Es el producto que encabeza el mercado, que da identidad y fama. Es un orgullo saber hacerlo”.*** Joaquina Ramos Pérez.
- ***“Es un producto que nació en Reyes. Es sabroso, es fuente de trabajo. Da a conocer al pueblo”.*** Alma Delia Jiménez Méndez.
- ***“Sostén económico. Alimento. Es una fuente de trabajo, una bendición. Conocimientos para sobrevivir. Es un valor artesanal en extinción que es rescatable.”*** Lorenzo López Pinelo.
- ***“Es lo máximo, por ser del lugar en que nació el quesillo, es un orgullo. Debe rescatarse por ser un producto propio.”*** Leonor López Reyes.

3.6. Elementos para un análisis FODA

Fortalezas

- Queso con historia, este producto cuenta con casi 130 años de elaboración, y el método para su elaboración es el tradicional.
- Existe una organización constituida, La Unión de Productores Auténticos de Queso y Quesillo de Reyes, Etlá S. A de C. V., la cual trabaja con apoyo de instituciones de enseñanza e investigación (principalmente Universidades) para obtener una marca colectiva.

- Existe articulación entre productores de leche y de queso de tipo coordinada e integrada.
- Al transformar para Quesillo únicamente la leche producida en la región, el vínculo territorial del producto es muy fuerte.
- Los queseros sienten orgullo por el Quesillo y son defensores de la continuidad de su producción.

Oportunidades

- El Quesillo es de los quesos mexicanos más elaborados, producidos y consumidos en México. Sin embargo, el Quesillo presenta particularidades que lo hacen diferente al resto del país derivado de su forma de elaboración.
- El consumo del Quesillo está arraigado dentro de la gastronomía mexicana y se utiliza en muchos platillos.
- Los consumidores están volviendo a lo tradicional y genuino, por ende está ocurriendo la revalorización de estos productos.
- Existe interés por parte de instituciones, tales como la el gobierno estatal, la Secretaría de Economía y los organismos de investigación (agentes de soporte), para impulsar la producción de Quesillo.
- La Expo-feria del queso y del Quesillo permite dar a conocer y promocionar el producto fuera del mercado local por la afluencia de turismo, ya que la fecha en que se realiza coincide con la de la Guelaguetza.

Debilidades

- Existe poca o nula toma de datos durante el proceso.

- A pesar de que las queserías cuentan con tecnología y equipo, base para mejorar el proceso, se aplica poco.
- Existe poco control de calidad en la leche y en la elaboración del Quesillo.
- Se carece de la implementación de buenas prácticas de manufactura en la producción.
- La calidad y las características sensoriales del Quesillo son heterogéneas dentro y entre queserías. Lo anterior debido al bajo control en los procesos de producción y a la dependencia de las condiciones ambientales para la fermentación de la pasta.
- Competencia por la leche dentro de las mismas queserías que favorecen la producción de queso fresco de aro debido a la mayor facilidad de proceso.
- La leche producida en la región es insuficiente para abastecer a todas las queserías.

Amenazas

- La elaboración del producto es ilegal ya que incumple con la NOM-243-SSA1-2010 por elaborarse a partir de leche cruda.
- Posible presencia de patógenos debido al empleo de leche cruda.
- Competencia desleal, se oferta queso proveniente de otras regiones argumentando que son de Reyes, Etlá.
- Actos de “piratería”, pues el Quesillo de Reyes, Etlá se funde junto con producto proveniente de otras regiones y estados, principalmente de Puebla, y se vende como original.

- La presencia en el mercado de queso Oaxaca de imitación que compite a menor precio, lo que limita el mercado del queso genuino.
- La organización está mal comunicada, lo que genera discordias y malos entendidos.
- Falta de liderazgo por parte de los representantes de la asociación.
- La información que llega al lugar no se comparte a tiempo o simplemente no se comparte.

Estrategias

- Informar a la población acerca de lo que el Quesillo representa, para las comunidades productoras, las cualidades que lo distinguen y los posibles beneficios a la salud.
- Garantizar el reconocimiento del producto, buscar primero la marca colectiva y darlo a conocer a las autoridades competentes para su protección.
- Diseñar nuevas formas de comercialización para dar a conocer el producto, ya que la mayoría de las veces es deseado, pero no se produce en un volumen adecuado para cubrir la demanda.
- Posicionar al Quesillo como un producto de nicho, buscar el mercado y brindar la confianza al consumidor.
- Mejorar la calidad higiénica del Quesillo y proponer alternativas para obtener un producto de bajo riesgo de contaminación que se consuma con confianza.
- Establecer las reglas de uso que mejoren y homogeneicen el producto.

3.7. Calidad de la leche en quesería

Se estudió la calidad de la leche que sirvió como materia prima para elaborar el Quesillo en las dos queserías que se tomaron como referencia para el estudio de la inocuidad y de la vida de anaquel. Se observó que el origen de la leche es variable, la quesería A se autoabastece, mientras que en la quesería B tienen 12 proveedores.

En la quesería B, la leche proviene de diferentes establos, llega mediante entrega y también es colectada por la quesería. La recepción se realiza entre las 8 y las 12 del día, la leche de la ordeña de la tarde llega refrigerada y la leche fresca de la mañana “llega caliente” (~30 °C). La leche se recibe en tambos de 150 litros donde se mezcla la proveniente de distintas ordeñas y predios.

No existió efecto de la interacción entre la quesería y la temporada en la calidad composicional de la leche ($p < 0.05$). Los resultados se muestran en el Cuadro 5. La estacionalidad no presenta un efecto significativo en la composición de la leche, lo que puede deberse a que el tipo de explotación es estabulado y la disponibilidad de alimento (en cuanto a tipo y cantidad), así como las pariciones son constantes a lo largo del año, a diferencia de las vacas que se mantienen en pastoreo. A pesar de que en la quesería B se procesa leche de diferentes lecherías, la composición media de la leche no varía pues es mezclada al momento de su llegada a la quesería. Walstra *et al.* (2006) mencionan que los principales factores de variabilidad en la composición de la leche son factores genéticos, estado de lactación, mastitis, así como la alimentación.

Cuadro 5. Composición de leche cruda* para la elaboración de Quesillo de Reyes, Etlá por quesería y temporada (promedio $\pm$ desviación estándar)

Parámetro	Temporada			
	Quesería	Lluvias	Secas	Media quesería
Grasa (%)	A	3.53 $\pm$ 0.47	3.84 $\pm$ 0.39	3.66 $\pm$ 0.46
	B	3.55 $\pm$ 0.33	3.47 $\pm$ 0.27	3.52 $\pm$ 0.30
	Media temporada	3.54 $\pm$ 0.40	3.66 $\pm$ 0.38	
Proteína (%)	A	2.68 $\pm$ 0.07	2.71 $\pm$ 0.30	2.70 $\pm$ 0.20
	B	2.84 $\pm$ 0.09	2.78 $\pm$ 0.14	2.82 $\pm$ 0.12
	Media temporada	2.76 $\pm$ 0.12	2.75 $\pm$ 0.23	
Sólidos no grasos (%)	A	8.29 $\pm$ 0.15	8.11 $\pm$ 0.07	8.21 $\pm$ 0.15
	B	8.14 $\pm$ 0.18	8.02 $\pm$ 0.49	8.09 $\pm$ 0.34
	Media temporada	8.22 $\pm$ 0.18	8.07 $\pm$ 0.35	
Sólidos totales (%)	A	11.91 $\pm$ 0.40	12.08 $\pm$ 0.38	11.98 $\pm$ 0.40
	B	11.83 $\pm$ 0.33	11.65 $\pm$ 0.46	11.75 $\pm$ 0.40
	Media temporada	11.87 $\pm$ 0.37	11.87 $\pm$ 0.48	
Lactosa (%)	A	4.47 $\pm$ 0.12	4.44 $\pm$ 0.05	4.46 $\pm$ 0.10
	B	4.29 $\pm$ 0.16	4.32 $\pm$ 0.51	4.30 $\pm$ 0.35
	Media temporada	4.39 $\pm$ 0.17	4.38 $\pm$ 0.37	

*Muestreado en los recipientes de cuajado de las queserías (antes del proceso).

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

Los valores promedio de la leche muestreada en las queserías durante las dos épocas del año leche cumple con lo estipulado por la NMX-F-700-COFOCALEC-2004 para el contenido de grasa, con un 3.60 $\pm$ 0.40 %, clasificándose dentro de la clase A; también el de lactosa, con 4.38 $\pm$ 0.27 %, que tiene como intervalo de 4.3 a 5 %. Sin embargo, la leche se encuentra por debajo de la especificación en los parámetros de proteína, con 2.76 $\pm$ 0.16 %, cuyo intervalo va de 2.8 a 2.99 % para la clase C.

De esta manera, la composición proximal de la leche revela que la dieta es rica en materiales que favorecen la producción de grasa (entre los que se encuentran los granos y los forrajes), pero deficiente en fuentes de aminoácidos que son necesarios para la

síntesis de proteína (entre los que se pueden citar a los cereales, la melaza, el ensilado de maíz, la pasta de soya, entre otros). Lo anterior puede explicarse por el costo más elevado de estos componentes para la formulación de la dieta del ganado.

Emery (1978) menciona que la alimentación con más energía, más proteínas, o menos fibra causa un importante incremento en la concentración de proteína en la leche. Estos mismos cambios dietarios usualmente incrementan la cantidad de leche producida, pero disminuyen o no alteran la concentración de grasa en leche. La influencia de la alimentación en la proteína de la leche puede ser más pequeña que otros efectos ambientales y genéticos, pero la alimentación es un factor manejable que puede ajustarse rápidamente.

La elaboración de ensilado de maíz, o de alfalfa, es una opción para mejorar la alimentación del ganado y con ello elevar el porcentaje de proteína, ya que este alimento presenta un mayor aporte nutrimental comparativamente al obtenido a partir de rastrojo o alfalfa fresca. De esta manera puede convertirse en una fuente apropiada y económica para la alimentación del ganado, ya que en la zona estos dos forrajes constituyen la base de la alimentación del ganado vacuno.

Al respecto, Broderick (1985) comparó el valor nutritivo de la alfalfa de buena calidad, principalmente del ensilado de alfalfa, con el del ensilado de maíz como único forraje en la dieta de vacas lecheras en lactación. Este investigador encontró que la producción de leche fue similar en las dietas que contenían 60 y 63 % de forraje y más baja en la de 76 % de ensilado de maíz. La concentración de proteína fue más baja en las dietas de alfalfa. La secreción de proteína y la conversión alimentaria más alta fue

obtenida en la dieta con un 60 % de ensilado de maíz. Los resultados indicaron que el ensilado de alfalfa de alta calidad es comparable al ensilado de maíz para la producción de leche.

Los factores de la quesería, la temporada, y su interacción no fueron variables estadísticamente significativas en la carga de bacterias mesófilas aerobias presentes ($p>0.05$), como se observa en el Cuadro 6. La carga de este grupo de microorganismos está por arriba del límite establecido por la NMX-F-700-COFOCALEC-2004 para una leche clase 4 ($5.78 - 6.08 \log_{10} \text{ ufc} \cdot \text{mL}^{-1}$). La NOM-243-SSA1-2010 no establece un límite para este grupo de microorganismos para leche cruda.

Cuadro 6. Cuenta de bacterias mesófilas aerobias ($\log_{10} \text{ ufc} \cdot \text{mL}^{-1}$) encontradas en leche cruda utilizada para la elaboración de Quesillo (media $\pm$ desviación estándar).

Quesería	Lluvias	Secas	Media quesería
A	6.60 ± 0.59	6.29 ± 0.44	6.44 ± 0.51
B	6.89 ± 0.49	7.32 ± 1.28	7.10 ± 0.94
Media temporada	6.74 ± 0.53	6.80 ± 1.05	

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

La población de bacterias mesófilas aerobias encontrada en leche revela deficiencia en la manipulación higiénica y que podría proceder de vacas mastíticas. Özer y Yaman (2014) mencionan que bajo condiciones de higiene bien establecidas el nivel de microorganismos contaminantes se espera menor que $10^3 \text{ ufc} \cdot \text{mL}^{-1}$. Por ello, una cuenta total de colonias en leche mayor que $10^5 \text{ ufc} \cdot \text{mL}^{-1}$ indica una falla seria en las prácticas de higiene.

En las lecherías se observó que las prácticas de higiene durante el ordeño incluyeron: el aseo diario del establo; la limpieza de los pezones antes de la ordeña; el

lavado de manos del ordeñador; así como, la utilización de cubetas lavadas, pero sin desinfectar, durante la ordeña y en la recepción de la leche. En la mayoría de las lecherías, el ordeño se realiza dentro del establo, por lo que la materia fecal, lodo y alimento, podría entrar en contacto con el recipiente de ordeño y, eventualmente, contaminar la leche y posteriormente el Quesillo.

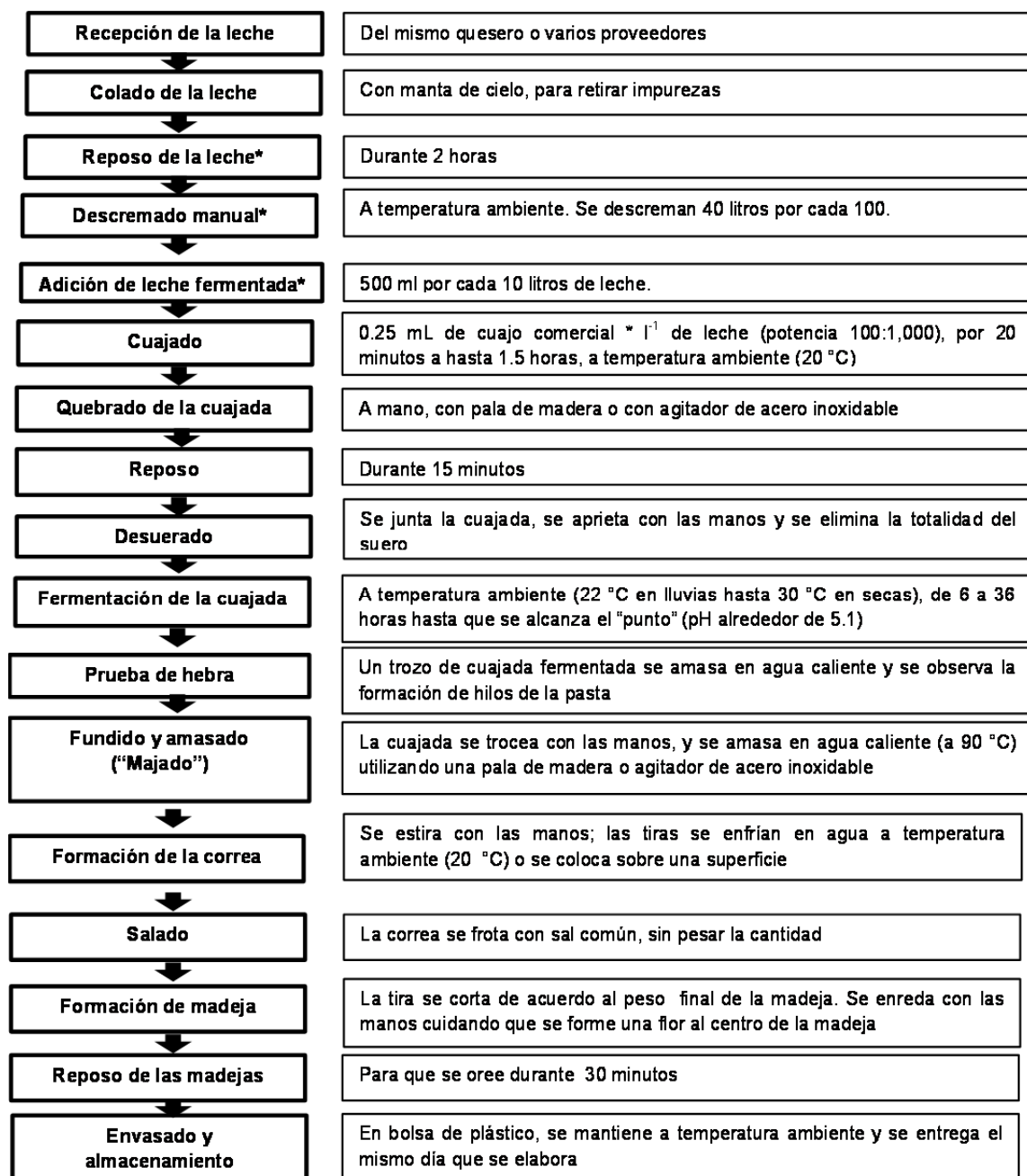
Estas prácticas no son suficientes para alcanzar una calidad microbiológica satisfactoria en la leche. Özer y Yaman (2014) mencionan que algunas medidas que se pueden tomar para prevenir la contaminación y el crecimiento de patógenos y no patógenos en leche son: higiene general; desinfección de la ubre, utensilios, y equipo en contacto con la leche; enfriamiento por debajo de 10 °C inmediatamente después del ordeño; separación de leche anormal (usualmente en color u olor, el límite de bacterias para producir sabor amargo y desagradable es $< 1 \times 10^7$ ufc mL⁻¹); la cadena de frío no debe ser rota entre el ordeño y en el procesamiento; si es necesario, la termización puede ser aplicada.

Es importante considerar que una elevada carga de bacterias en leche podría no reducirse por debajo de límites seguros mediante la pasteurización, por lo que el cuidado en la obtención de la leche es de gran importancia para mantener la calidad y la inocuidad de la leche y de los productos lácteos (Özer y Yaman, 2014), más aun en quesos de leche cruda.

3.8. Proceso de elaboración del Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca

Este producto posee una gran presencia en la dieta, la memoria y los afectos de los oaxaqueños. Su producción artesanal es motivo de orgullo y arraigo para los pobladores

de Reyes, Etla. Consideran un arte su elaboración y, sobre todo, el sustento familiar para la mayoría de los pobladores del lugar. En la Figura 3 se muestra el proceso general para elaborar el Quesillo, de Reyes, Etla.



* Paso que no se realiza en todas las queserías

Figura 3. Diagrama de bloques del proceso general promedio de elaboración del Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca.

A continuación se describen algunos pasos dentro del proceso de elaboración del Quesillo.

Recepción de la leche. La leche se coloca en recipientes de plástico, cuya capacidad varía según el volumen procesado. La leche se cuela con una manta a la par de que se mezcla la de diferentes vacas o proveedores (ver Figura 4).



Figura 4. Recepción y colado de la leche para la elaboración de Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca.

Descremado de la leche. Se separa un volumen de leche que se deja en reposo durante varias horas (2 aproximadamente), durante este tiempo ocurre el fenómeno de descremado espontáneo, lo que le permite realizar un descremado parcial a un volumen de leche que después se mezcla con leche entera. El descremado se realiza manualmente.

Adición de leche fermentada. A la leche fresca se le añaden 2.5 tazas de “fermento” por cada 10 litros de leche, para acelerar la fermentación y alcanzar el “punto” de hilado en menos horas. Se le llama “fermento” a la leche que ha sido fermentada por las bacterias lácticas nativas de la leche durante aproximadamente 12 horas a temperatura ambiente. La maestra quesera menciona que es poco frecuente que recurra a la adición

de “fermento”, pues el Quesillo presenta sabores más ácidos y en ocasiones desagradables, además de una textura blanda que pierde más rápido la hebra.

A este respecto Aguilar-Uscanga *et al.* (2006) encontró una disminución de 3.1 h en la fermentación de la cuajada para queso Oaxaca al agregar 30 % de suero fermentado (a 30 °C por 20 h) a la leche. El queso Oaxaca resultante no mostró diferencia en la composición, el nivel de proteólisis y lipólisis, ni en el color con respecto al testigo. Sin embargo, se obtuvo un queso con menor dureza y elasticidad.

Cuajado. El cuajado es de tipo enzimático, utilizando cuajo líquido de origen animal (comercial o de “cuerito”), enzimático o microbiano. Las marcas que comúnmente se utilizan son Reninmex, Ruly y Cuamex.

El cuajado se realiza a la temperatura que tiene la leche (entre 20 y 30 °C) antes del proceso. Para el caso de las queserías que procesan su propia leche el tiempo antes del cuajado es de una a dos horas por lo que la temperatura al momento de cuajado es de aproximadamente 30°C. El volumen de cuajo a utilizar, en la mayoría de los casos, se mide por tapas o por cucharada. El tiempo de reposo una vez que se adicionado el cuajo varía desde 20 minutos a hasta 1.5 horas, el aumento se debe al aumento de volumen.

Quebrado. Para realizar el quebrado de la cuajada se verifica que ésta presente una textura gelatinosa y que al sumergir los dedos no se quede adherida a las manos. Además, en algunas queserías se realiza un corte en forma de cruz a la cuajada; sí al hacerlo ocurre la separación del suero entonces se quiebra. El quebrado es la operación de rompimiento de la cuajada para que ocurra la sinéresis. Este paso se realiza con ayuda de una pala de madera o de un agitador de acero inoxidable, dependiendo del

volumen de la leche. Los trozos obtenidos carecen de un tamaño uniforme. El trabajo de grano se limita al tiempo requerido para realizar el rompimiento de la cuajada, lo más común es que vaya desde 5 hasta 15 minutos.

La cuajada quebrada se deja reposar durante 15 minutos para que se asiente y se separe del suero. Posteriormente, se realiza un desuerado total o parcial (entre un 75 y 100 % del total del suero) y la cuajada se junta con las manos, presionándola. Finalmente, se cuela con un colador de plástico, o con manta.

Fermentación de la cuajada. Para elaborar Quesillo, la cuajada desuerada se fermenta de manera espontánea, por la flora láctica nativa de la leche, entre 6 y 36 horas, dependiendo de las condiciones ambientales. Cuando hay una temperatura ambiental baja, se busca acelerar el proceso de fermentación a través de la adición de agua tibia a la cuajada, cubriendo el recipiente de reposo con una bolsa plástica y colocándola en una zona tibia dentro de la quesería.

Este proceso bioquímico es medular para conseguir las propiedades termoplásticas que intervienen en la formación de hebra en los quesos de pasta filata. Durante la fermentación, la disminución del pH en el suero drenado incrementa tanto la pérdida de calcio de la cuajada como la fusión de las partículas de para-caseína. La “estirabilidad” y otras propiedades funcionales del queso se deben, principalmente, a la extensa desmineralización de la cuajada, así como al pH bajo (de 5.1 hasta 5.4) alcanzado en la pasta por acción de la microflora (Lucey y Fox, 1993).

Frank y Marth (1988) definen fermentación láctea como cualquier modificación de las propiedades químicas o físicas de la leche o productos lácteos, resultante de la

actividad de microorganismos (i. e. bacterias ácido lácticas) o sus enzimas. Esta actividad puede involucrar a células activas (metabólicamente), enzimas extracelulares o enzimas intracelulares liberadas después de la lisis de la célula.

El proceso de fermentación involucra la transformación de carbohidratos para generar productos que son principalmente ácidos orgánicos, alcohol y dióxido de carbono; en los productos lácteos las bacterias ácido lácticas juegan un rol importante. Este grupo de microorganismos está compuesto por varios géneros que incluyen *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Pediococcus* (Ross *et al.*, 2002). Se ha demostrado que en productos lácteos los cultivos iniciadores inhiben el crecimiento de bacterias y grupos bacterianos como *Enterobacteriaceae*, coliformes, *Salmonella* spp., *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, y *Listeria monocytogenes*. La efectividad de este tipo de inhibición depende de la velocidad de fermentación, la duración del tiempo de procesamiento, la contaminación inicial y por el tipo de microorganismo presente (Vătușiu y Popa, 2015; Tatsadjieu *et al.*, 2009; Dillon, 2014).

En el Quesillo el desarrollo de la acidez, producto de la fermentación de la lactosa hacia ácido láctico, es monitoreado por los maestros queseros mediante el uso de los sentidos. El sentido del olfato y del gusto son empleados para detectar el sabor y el aroma del ácido desarrollado. Adicionalmente, la desmineralización de la cuajada se percibe con el sentido del tacto, ya que se toma la cuajada entre los dedos y se busca un aumento de la elasticidad de la masa quesera. A la vista, la cuajada fermentada debe ser brillante, con una textura lisa y esponjosa por la formación de hoyos grandes. El

crecimiento de microorganismos se percibe por la formación de gas que genera hoyos en la pasta y hace que ésta flote.

Esta última característica en otros quesos se considera un defecto, pues corresponde a la presencia de “hinchazón temprana” originada por la formación de gas (CO_2 y H_2) que abomba o llega a romper la cuajada. Este defecto se relaciona con la presencia de bacterias heterofermentativas, principalmente coliformes, como *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* y *Klebsiella aerogenes*, y por levaduras capaces de fermentar lactosa como son *Kluyveromyces lactis*, *Dekkera anomala* y *Torulospira delbrueckii* (Alichanidis, 2007).

La presencia de hinchazón temprana en la cuajada fermentada en quesos requiere de un número inicial relativamente alto de microorganismos, asociados con este aspecto (mayor que 10^5 - 10^6 ufc·mL⁻¹ de leche), asimismo de una velocidad de acidificación muy lenta o insuficiente para suprimir su crecimiento (Alichanidis, 2007). Características presentes en la elaboración de Quesillo. La presencia de agujeros grandes y pasta “esponjosa” (ver Figura 5), además de un ligero olor a alcohol en la cuajada fermentada sugiere el crecimiento de levaduras.



Figura 5. Cuajada fermentada “esponjosa”, con presencia de agujeros de gran tamaño que pueden asociarse con la formación de gas por levaduras.

Prueba de hebra. Este procedimiento se ejemplifica en la Figura 6, sin embargo la cuajada fermentada de la imagen no ha alcanzado el “punto”, ya que la textura obtenida no es lisa y no se observa la formación de hilos, o “hebras”.



Figura 6. Desmoronado de la cuajada fermentada, trabajo en agua caliente y estirado durante la prueba de hebra para detectar el “punto”.

Cuando finalmente se percibe sensorialmente que la cuajada ha alcanzado el “punto”, se realiza la prueba de la siguiente manera:

1. Un trozo de cuajada se sumerge en agua caliente (80-90 °C) y se amasa mediante el uso de una pala de madera, o con una cuchara, hasta observar la pérdida de identidad individual de los trozos de cuajada (fundido).
2. Una vez que la masa se torna lisa, ésta se estira para formar una tira aplanada.
3. La tira se toma entre los dedos y se aplica una fuerza en sentido paralelo a la dirección de la tira, al hacer esto se debe observar la presencia de una textura lisa y elástica.

Los diferentes grados en el “punto” puede explicarse por lo expuesto por Fox *et al.* (2000), quienes mencionan que en quesos de pasta filata cuando se tiene una cuajada con pH alto, ésta se vuelve menos lisa después de la plastificación, reflejando una disminución de la hidratación de la paracaseína resultado de la reducida proporción de calcio soluble a calcio micelar. A un pH mayor a 5.4, la cuajada falla en plastificar correctamente. En lugar de eso se obtiene una masa inflexible de consistencia áspera, opaca, corta y grumosa. Sin embargo, una plastificación exitosa puede ser lograda a un pH alto de la cuajada (v. g., 5.6-5.8) si el nivel de calcio de la cuajada es suficientemente bajo (v. g., $< 18 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ proteína), como en el caso de queso Mozzarella hecho por acidificación directa.

Fundido, amasado y formación de hebra. Los quesos de pasta filata se distinguen de otros por el tratamiento de plastificación y amasado de la cuajada con agua caliente, mismo que imparte al queso características de estructura fibrosa, de fundibilidad, y propiedades de estirabilidad. El “cocido” en agua caliente resulta en la formación de una masa derretida, y el estiramiento de la cuajada orienta a las fibras de proteína en dirección del mismo. La “estirabilidad” (i. e., propiedad de la masa calentada para formar hebras fibrosas que se alargan sin romperse bajo tensión) parece estar relacionada con la concentración relativamente alta de caseína intacta y con las concentraciones críticas de Ca y PO_4 (Lucey y Fox, 1993).

En el quesillo, una vez que la cuajada fermentada alcanzó el “punto” se procede a desmoronarla para poder amasarla. Después se agrega agua caliente (a 90°C en promedio) y la cuajada se amasa, o maja, con una pala de madera o con un agitador de acero inoxidable durante aproximadamente 8 minutos hasta que la cuajada se torne

elástica y lisa. En ocasiones se realiza un cambio de agua caliente. En la Figura 7 se muestra el proceso de amasado (majado) de la pasta con un cambio de agua caliente.



Figura 7. Proceso de amasado (majado) de la pasta con pala de madera con cambio de agua caliente durante la elaboración de Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca.

Alcanzado este punto, la cuajada se comienza a estirar para formar correas delgadas y aplanadas que se colocan en agua a temperatura ambiente (alrededor de 20 °C) o sobre una mesa (Figura 8). Esto para que la correa se enfríe y evitar así que forme una pieza compacta.



Figura 8. Estirado de la masa quesera después del proceso de amasado en la elaboración de Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca.

Salado, cortado y formación de madeja. El largo de las correas se determina de acuerdo al peso que tendrá el Quesillo. A la hebra cortada se le frota sal y, finalmente, se enreda formando una flor en el centro, mostrando una especie de “ombligo”. Esta “flor” es parte la tipicidad del Quesillo, pues permite diferenciarlo de los elaborados en otros lugares y de los industriales (Figura 9).



Figura 9. Salado y enredado de la hebra para la formación de las madejas de Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca.

Reposo de la madeja. Las piezas de Quesillo se dejan reposar durante 30 minutos antes de ser envasadas, pues aún se presenta exudación de suero que si se queda en la bolsa puede generar olores desagradables y una textura masosa. Cuando el Quesillo se envasa inmediatamente después de elaborado se necesita un cambio de bolsa antes de llevarlos a la venta. Las piezas de Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca se presentan en la Figura 10.



Figura 10. Piezas de Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca recién elaboradas.

Envasado y almacenamiento. El Quesillo se envasa en bolsas de plástico a las que se le amarran los extremos para eliminar la mayor cantidad de aire, con lo que se evita el crecimiento de mohos, y para mantener su forma. El Quesillo se entrega el mismo día de elaboración, por lo que las condiciones de almacenamiento no dependen de la quesería. De ser necesario, el Quesillo se guarda en refrigeración cubriéndolo con tela pues, a decir de la maestra quesera, el frío lo “quema” (el Quesillo se torna más amarillo y causa el rechazo del consumidor).

Durante la visita a diferentes establecimientos donde se comercializa el Quesillo, se observó que éste no se guarda bajo refrigeración y fue perceptible la presencia de suero en las bolsas que lo contenían. Dicha sinéresis puede deberse a que la acidificación de la pasta, vía fermentación, continúa aún después del malaxado y por la adición de sal. En

la Figura 11 se observa al Quesillo exhibido para su comercialización durante la Expo-Feria del queso y el Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca.



Figura 11. Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca exhibido para su venta durante la Expo-Feria del Queso y el Quesillo en Reyes, Etla, Oaxaca.

3.9. Proceso de fabricación en varias queserías.

Existe heterogeneidad en la forma de elaboración del Quesillo, en el Cuadro 7 se muestran algunos parámetros particulares dentro del proceso de elaboración de cada quesería de Quesillo visitada en Reyes, Etla, Oaxaca.

Cuadro 7. Parámetros dentro del proceso de elaboración de Quesillo en distintas queserías de Reyes, Etlá (Promedio $\pm$ desviación estándar).

Parámetro	Quesería									Media
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Edad de la leche	0.5	3	1	3	3	1.5	6	1.50	3	2.5 $\pm$ 1.5
Temperatura de la leche en cuajado (°C)	35.5	31.5	36	29	20	30	20	20	20	26.8 $\pm$ 6.5
Tipo de cuajo	C	A	A	M	M	A	A	A	A	--
Dosis de cuajo (mL de cuajo*L ⁻¹ de leche)	18.75	0.20	16.6	0.12	0.1	50	0.25	0.5	0.12	9.6 $\pm$ 15.9
Tiempo de cuajado (min)	90	30	20	75	20	45	60	20	40	44.4 $\pm$ 24.2
Tiempo de quebrado (min)	6	15	6	N.E.	2.5	N. E.	N. E.	5	5	6.6 $\pm$ 3.9
Tiempo de reposo (min)	5	10	5	10	N. E.	N. E.	10	15	40	13.6 $\pm$ 11.2
Tiempo de fermentación mínimo (h)	6	6	6	6	6	6	7	9	6	6.4 $\pm$ 0.95
Tiempo de fermentación máximo (h)	12	24	24	>12	30	15	>12	>20	20	20.8 $\pm$ 6.0

C=cuerito; A=animal; M=microbiano; N. E. = No especificado.

Adaptado de Villegas *et al.* (2013).

4. CONCLUSIONES

La leche utilizada para la elaboración de Quesillo posee una calidad fisicoquímica adecuada, pero requiere de la atención del eslabón primario para reducir la carga de microorganismos. Esto tiene una importancia mayor debido a que la leche no se somete a ningún tratamiento para mejorar su calidad microbiológica, por lo que una leche contaminada de origen tendrá serias implicaciones en la calidad final del Quesillo.

Un cuello de botella para la elaboración del Quesillo es la cantidad limitada de leche, lo que encarece el precio y pone en riesgo la elaboración del producto, haciéndolo propenso a la adulteración con materia primas que contiene polvos proteicos importados.

En el Quesillo, existe una calidad simbólica que permite obtener un sobreprecio en comparación del queso tipo Oaxaca. Parte de la tipicidad del Quesillo se debe al empleo único de la flora láctica nativa de la leche cruda para la fermentación de la cuajada. Sin embargo, para que pueda continuarse con el uso de leche cruda (reservorio de dicha microflora) debe retomarse la mejora de las condiciones higiénicas dentro de todo el SAI leche-Quesillo. De esta manera se obtendrá un producto de bajo riesgo de contaminación, principalmente microbiológica, lo que favorecerá su permanencia y posicionamiento en el mercado.

La elaboración del Quesillo se realiza de forma completamente artesanal; se utiliza el conocimiento empírico como fundamento para la producción. No obstante que varias

de las queserías poseen equipos de acero inoxidable e instrumentos de medición, no se utilizan debido al procesamiento de volúmenes reducidos de leche y por resistencia al cambio. Por lo anterior, y aunado a que no existe estandarización dentro del proceso, se genera un producto heterogéneo, dentro y entre queserías. Por lo demás no tienen que ser productos estándar, pero en todo caso se debe cerrar el grado de variabilidad de proceso entre queserías.

Un rasgo importante dentro de la tipicidad del producto lo constituye la fermentación por medio del uso de la microflora láctica nativa que le da características de sabor y aroma propias, pero complejas. Sin embargo, al no controlar ninguna variable, los queseros están a expensas de las condiciones “naturales”, del queso y del medio circundante, que definen el crecimiento de los microorganismos en el producto.

La elaboración y el consumo de Quesillo poseen un fuerte arraigo cultural y territorial en Reyes, Etlá, Oaxaca. Sin embargo, para obtener una Marca Colectiva que tenga impacto en la mejora de las condiciones de venta y de posicionamiento del producto en el mercado, se requiere del compromiso de todos los actores involucrados; desde los productores hasta el gobierno. En este sentido, existe proximidad física entre queserías que puede generar acciones colectivas y externalidades positivas que incluyen la vinculación con instituciones de educación superior; la caracterización del producto para la obtención de la Marca Colectiva; el acceso a apoyos para la difusión del Quesillo, entre otros. Sin embargo, se requiere que exista proximidad organizacional para que dichas ventajas prosperen. En este sentido, algunos obstáculos encontrados en la organización se relacionan principalmente con la pérdida de liderazgo y con errores en la comunicación.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar-Uscanga B. R., Montero-Lagunes M., De la Cruz J., Solís-Pacheco J. R. y García H. S. (2006). Uso de suero fermentado para reducir el tiempo de acidificación del queso Oaxaca. *Agrociencia* 40: 569-575.
- Alichanidis E. (2007). What causes early and late gas blowin in white-brined cheese? *In* McSweeney, P.H.L. (ed.). *Cheese problems solved*. CRC Press. pp: 332-335.
- Broderick G. A. (1985). Alfalfa silage or hay versus corn silage as the sole forage for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 68: 3262-3271.
- Cervantes E. F., y Villegas G. A. (2011). La genuinidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales mexicanos. *Estudios sociales* 19(38): 145-164.
- Cervantes F., Santoyo H. y Álvarez A. (2001). *Lechería familiar. Factores de éxito para el negocio*. Plaza y Valdés, UACH, CUESTAAM Y CONACYT. México, 230 p.
- Consejo para el Fomento de la Calidad de la Leche y sus Derivados. (2004). NMX-F-700-COFOCALEC-2004. Sistema producto leche-Alimento lácteo leche cruda de vaca- Especificaciones físico-químicas y sanitarias y métodos de prueba.
- Dillon V. M. (2014). Preservative effects during storage. *In*: Batt, C. A. and M. L. Tortorello (eds). *Encyclopedia of food microbiology*. Vol. 2. Academic Press, Elsevier. pp: 721-727.
- Domínguez-López A., Villanueva-Carvajal A., Arriaga-Jordán C. M., y Espinoza-Ortega A. (2011). Alimentos artesanales y tradicionales: el queso Oaxaca como un caso de estudio del Centro de México. *Estudios Sociales* 19 (38): 166-193.
- Emery R. S. (1978). Feeding For Increased Milk Protein. *Journal of Dairy Science* 61:825-828.
- Fox P.F., Guinee P.T., Cogan M.T. and Mc-Sweeney L. H. (2000). *Fundamentals of Cheese Science*. Maryland, USA: ASPEN Publication. 557 p.
- Frank F. J. and Mart H. E. (1988). Fermentations. *In*: Jeness, R., M. Keeney and H.E Mart. (coords). *Fundamentals of Dairy Chemistry*. 3rd. ed. Ed. Van Nostrand. Nueva York, USA. pp: 655-738.

- Lucey J. A. and Fox P. F. (1993). Importance of calcium and phosphate in cheese manufacture: A review. *Journal of Dairy Science* 76:1714–1724.
- Montgomery D. (1991). *Diseño y análisis de experimentos*. Ed. John Wiley.
- Oyarizún M., Tartanac F. y Riveros H. (2002). Propuesta de un sello de calidad para promover la pequeña industria rural en América Latina. FAO. 43 p.
- Özer B. and Yaman H.. 2014. Microbiology of Liquid Milk. In: Batt, C. A., and M. L. Tortorello (eds.). *Encyclopedia of food microbiology*. Vol. 2. Academic Press, Elsevier. pp: 721-727.
- Poméon T. y Cervantes F. (2010). "El sector lechero y quesero en México de 1990 a 2009: entre lo global y local". *Reporte de Investigación* (89): 1–47.
- Prigent-Simoin A. H. and Hérault-Fournier. (2005). The role of trust in the perception of the quality of local food products: with particular reference to direct relationships between producer and consumer. *Anthropology of Food* 4.
- Ross R. P., Morgan S. and Hill C. (2002). Preservation and fermentation: past, present and future. *International Journal of Food Microbiology* 79: 3-16
- Secretaría de Economía. (2012). *Análisis del sector lácteo en México*. Dirección General de Industrias Básicas. México.
- Secretaría de Salud. (1994). NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- Secretaria de Salud. (2010). NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
- SAGARPA-SIAP. (2015). Boletín de leche Julio-Septiembre 2015, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. En línea: http://www.siap.gob.mx/wp-content/uploads/BoletinLecheJulio-Septiembre_2015.pdf (Fecha de consulta: 15 de noviembre de 2015).
- Taibo P. I. (1992). *Encuentro de dos fogones*. Ed. Promoción e Imagen. México, DF. México.
- Tatsadjieu N. L. , Njintang Y. N., Sonfack T. K., Daoudou B. and Mbofung C. M. F.. (2009). Characterization of lactic acid bacteria producing bacteriocins against chicken *Salmonella enterica* and *Escherichia coli*. *African Journal of Microbiology Research* 3 (5): 220-227.

- Vătuțiu D. S. E. and Popa M. N. (2015). Lactic acid bacteria inhibitory activity on the pathogens *Salmonella* and *Listeria monocytogenes*. Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies 19: 337-334.
- Villegas de G. A., Almaro V. J., Hernández H. A., Huerta P. L., López A. I. B., Prieto P. M. A., Rosas D. L. E., Sampiri F. L. F. y Zea H. J. (2013). Sistema agroindustrial leche-Quesillo de Etla, Oaxaca. Proyecto de fase de campo. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo. México.
- Villegas G. A., Cervantes E. F., Cesín V., Espinoza O. A., Hernández M. A., Santos M. A. y Martínez C. A. R. (2014). Atlas de quesos mexicano. Ed. Mundi-Prensa. México. –Colegio de Posgraduados. México.
- Walstra P., Wouters J. T. M. and Geurts T. J. (2006). Dairy science and technology. CRC Press. USA. Pp: 763.

CAPÍTULO 2. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS E INOCUIDAD DEL QUESILLO DE REYES, ETLA, OAXACA

CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS E INOCUIDAD DEL QUESILLO DE REYES, ETLA, OAXACA

PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS AND SAFETY OF QUESILLO CHEESE FROM REYES, ETLA, OAXACA

Márquez Roa Laura Martin¹ y Villegas De Gante Abraham²

RESUMEN

En el Quesillo se evaluó su inocuidad, el tratamiento térmico que se da a la masa quesera, y las propiedades fisicoquímicas del producto durante dos épocas del año. Para esto se seleccionaron dos queserías, mediante muestreo dirigido. El contenido de sal, de calcio y de cenizas; así como la firmeza, el color (tono y pureza), el pH y la actividad de agua tuvieron diferencia estadística en el Quesillo. El tratamiento térmico redujo la población de bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales, y de mohos y levaduras en 1.7, 3.05 y 2.61 $\log_{10}$ ufc·g⁻¹, respectivamente. No obstante, tanto el nivel de población de estos microorganismos como la presencia *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y de *Salmonella* spp. estuvieron por arriba del límite establecido por la NOM-243-SSA1-2010.

Palabras clave: inocuidad, composición proximal, tratamiento térmico.

ABSTRACT

Safety, heat treatment during the kneading in hot water, and physicochemical properties were evaluated in two seasons. Dairies were selected throughout directed sampling. Salt, calcium and ash content, firmness, and color (tone angle and purity), pH and water activity were significantly different in Quesillo cheese. Heat treatment decreased the population of aerobic mesophilic bacteria, total coliforms, and yeast and mold by 1.7, 3.05, and 2.61 $\log_{10}$ ufc·g⁻¹, respectively. However, these population levels and *E. coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. presence were above the limit established by the NOM-243-SSA1-2010.

Key words: safety, proximate composition, heat treatment.

¹ Tesista

² Director

1. INTRODUCCIÓN

El Quesillo es uno de los quesos mexicanos más difundidos y consumidos en México, donde se conoce genéricamente como queso Oaxaca; para el año 2012 la producción de éste fue de 19,645 toneladas. Sin embargo, el Quesillo genuino muchas veces sólo se conoce en el lugar en que se elabora ya que se produce tradicional y artesanalmente y su difusión en el mercado es limitada. Esto es debido a que en el contexto económico actual, altamente competitivo e incierto, existen productos de imitación y extranjeros, los cuales tienen más penetración en el mercado nacional (Núñez-Hernández, 2006).

Por su proceso de elaboración, es posible diferenciar al queso genuino artesanal, denominado “Quesillo”, que se elabora en la localidad de Reyes, Etla, Oaxaca, del queso Oaxaca comercial, que se produce en el resto del país. El Quesillo genuino es muy apreciado por los consumidores quienes lo demandan a pesar de su precio relativamente alto, de entre 90 a 120 pesos por kilogramo (en el mes de abril de 2015). Es importante notar que es elaborado a pequeña escala en pequeñas queserías, y constituye un medio de subsistencia para muchas personas, incluyendo a los queseros, ganaderos, expendedores y sus familias, en virtud de los encadenamientos productivos.

A diferencia del queso Oaxaca, en el proceso de elaboración del quesillo se utiliza una cuajada de leche cruda que se deja fermentar por varias horas, lo que favorece la reproducción de sumicrobiota natural que está ligada a la zona de producción y da al

queso características fisicoquímicas y sensoriales únicas. No obstante, la NOM-243-SSA1-2010 (“Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba”) (SSA, 2010) prohíbe el empleo de leche cruda para la elaboración de queso, y la NMX-F-733-COFOCALEC-2010 para queso Oaxaca, especifica que debe utilizarse leche pasteurizada. Por otra parte, las referencias sobre quesos de leche cruda, madurados, así como los de imitación han sido retiradas en La Ley General de Salud de 1999, de tal manera que estos productos, a pesar de tener una existencia real e importancia económica y social, han sido excluidos de la normatividad presente (Cervantes y Villegas, 2011).

Esta objeción normativa para el empleo de leche cruda en el quesillo justificó la investigación sobre la calidad microbiológica de éste, pues aunque con la pasteurización de la leche se logra cierta inocuidad por la eliminación de microorganismos patógenos, también se pierde la microbiota nativa que da al queso parte de su tipicidad.

Con relación a lo anterior, el efecto de las condiciones microambientales desarrolladas en el queso (v. g. a_w , pH, y contenido de sal) y del tratamiento térmico sobre las poblaciones de microorganismos, deteriorantes y patógenas, reveló aspectos sobre su inocuidad. Además, la caracterización de su proceso de elaboración permitió conocer algunos puntos que son críticos para reducir el riesgo de contaminación en el producto, siendo uno de los más importantes la aceleración de la velocidad de fermentación.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Plan de muestreo

El estudio del Quesillo representó un reto en cuanto al número de queserías que pudieron ser evaluadas, ya que la fermentación se lleva a cabo por las bacterias nativas de la leche y depende de las condiciones ambientales prevalecientes. Lo anterior generó que, en ocasiones, la masa quesera alcanzara el “punto”² al mismo tiempo en las distintas queserías, independientemente de la hora a la que se inició la fermentación. Esto debió valorarse, pues tanto la toma de muestras de la cuajada fermentada como el monitoreo del tratamiento térmico, durante el malaxado, exigió la presencia del investigador en la quesería al momento de la fase final durante la elaboración del queso.

Por dichas limitantes, se consideró una muestra de sólo dos queserías, las cuales estuvieron ubicadas en Reyes, Etla, Oaxaca. La selección de las mismas se realizó mediante un muestreo dirigido, mismo que tomó en cuenta las prácticas de higiene bajo las que se elabora el Quesillo, el prestigio de la quesería y la disposición de los dueños para participar en el estudio.

La selección de las queserías se facilitó debido a la vinculación existente con la Unión de Productores Auténticos de Queso y Quesillo, S. A. de C. V., misma que permitió conocer anticipadamente la manera de elaborar el Quesillo en cada quesería.

² Término que se refiere a la acidez y desmineralización adecuada de la pasta para lograr el hilado y la formación de madejas.

La disponibilidad de las maestras queseras para realizar este estudio fue fundamental pues, en ocasiones, la obtención del “punto” ocurrió en la madrugada, requiriéndose el pernoctar en la quesería.

Para determinar el número de lotes a analizar, se tomó como base el plan de muestreo establecido por la directiva europea 92/46/EEC (Foryste, 2000), que se presenta en el Cuadro 1. Esto debido a que la normatividad mexicana relativa a la determinación de la calidad microbiológica de alimentos (NOM-210-SSA1-2014) y, particularmente de productos lácteos (NOM-243-SSA1-2010), no establece el número de muestras ni los criterios microbiológicos para considerar la aceptación o el rechazo del producto evaluado.

Cuadro 1. Criterios microbiológicos para quesos europeos hechos con leche cruda y tratados por calor (Directiva europea 92/46 EEC).

Microorganismo	Limite	N	c	m	M
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ausente en 1 g	5	0		
<i>Salmonella</i> spp.	Ausente en 25 g	5	0		
<i>Staphylococcus aureus</i> (log ₁₀ ufc·g ⁻¹)		5	2	3	4
<i>Escherichia coli</i> (log ₁₀ ufc·g ⁻¹)		5	2	4	5

m: valor umbral del número de bacterias.

M: máximo valor del número de bacterias.

n: número de unidades que comprenden la muestra.

c: número de unidades de muestras donde la cuenta bacteriana puede estar entre “m” y “M”.

Para cumplir el plan de muestreo se analizaron cinco muestras de Quesillo recién elaborado, también se tomaron las muestras de cuajada fermentada de las que procedieron. Lo anterior con la finalidad de evaluar el efecto del tratamiento térmico sobre la población de los microorganismos estudiados.

Las muestras obtenidas fueron debidamente empacadas y se condujeron a la UACH, dentro de una caja térmica con geles refrigerantes.

Debido a que la producción de Quesillo se realiza por pedido, fue necesario acordar con las maestras queseras las fechas en las que se realizaría el muestreo, así como el número de muestras a coleccionar. En la quesería A se consideró como unidad experimental a la leche y al Quesillo proveniente de las diferentes ordeñas. Para el caso de la quesería B, los lotes se agruparon de acuerdo con los distintos proveedores de leche.

El muestreo se realizó en dos ocasiones, una en época de secas y otra en lluvias, para comparar los resultados. Para el muestreo de lluvias se acudió a las queserías en distintas ocasiones, teniendo un total de 5 fechas de muestreo (septiembre-noviembre de 2014). En la primera, se practicó la toma de muestras y la medición del tratamiento térmico a la masa quesera; así como, los análisis microbiológicos y fisicoquímicos. Del segundo al quinto muestreo se coleccionaron las muestras y se realizaron los análisis pertinentes. La relación lograda con las maestras queseras permitió la coordinación necesaria para coleccionar, en una sola visita, la totalidad de las muestras durante el periodo de secas (abril 2015).

2.2. Toma de muestras

Las muestras de cuajada fueron de aproximadamente 100 g y se guardaron dentro de vasos de plástico estériles con cierre hermético. Los quesos fueron piezas de 500 g, que después de envasadas se colocaron dentro de bolsas Ziploc® con cierre hermético. Se

tomaron 2 piezas de Quesillo por cada lote, una que se analizó y la otra se mantuvo sellada como referencia en caso de necesitar la repetición de algún análisis.

Las muestras de cuajada y de Quesillo, una vez etiquetadas, se colocaron dentro de hieleras que contenían geles refrigerantes y se transportaron al lugar de análisis en un lapso de 10 ± 2 h, a una temperatura promedio de 8 ± 2 °C. Posteriormente, fueron conservadas en refrigeración a 5 °C, a fin de disminuir su deterioro, hasta la realización de las pruebas correspondientes. Los análisis microbiológicos se efectuaron entre las 24 y 48 horas después de que el Quesillo se elaboró.

2.3. Evaluación del tratamiento térmico

El monitoreo de la temperatura que alcanza la masa quesera durante el amasado se realizó utilizando termopares (LabQuest de Vernier®). Se tomaron datos cada 0.5 segundos desde que se añadió el agua caliente hasta que se terminó el amasado de la pasta.

2.4. Análisis químico proximal

Los análisis fisicoquímicos (pH y a_w) se efectuaron en cuajada y en queso. La composición química proximal (grasa, proteína, humedad, cenizas, NaCl, y calcio), el color y la textura se determinaron solamente en el producto terminado. Estos análisis se llevaron a cabo en los días subsecuentes. Se realizaron tres mediciones repetidas de los parámetros para cada uno de los 5 lotes evaluados tanto en la temporada de lluvias como en la de secas.

La medición del pH se realizó de acuerdo a la NMX-F-099-1970 con la modificación de que se utilizaron 5 g de muestra y 45 mL de agua. Se utilizó un potenciómetro marca Hanna Instruments, calibrado con una solución buffer pH 7.0 (J.T. Baker, México), las mediciones se realizaron a 24 °C. La muestra de cuajada fue previamente mezclada para tomar una porción representativa. El Quesillo se ralló antes de ser pesado para procurar que se tomara una muestra representativa y disminuir el posible efecto de un gradiente de pH. La actividad de agua se obtuvo con un medidor de actividad de agua Aqualab (Decagon, WA, EE.UU) a 25 °C.

Se determinó el contenido de humedad, grasa, proteína, y el contenido de NaCl mediante el análisis con infrarrojos por transformadas de Fourier, con el equipo FoodScan™. También se cuantificó el contenido de cenizas, mediante el método 935.42 de la AOAC (Cunniff, 1995), y de calcio, por espectrofotometría de absorción atómica (ISO 8070: 2007).

2.5. Análisis de Perfil de Textura

De cada queso se prepararon muestras cilíndricas usando un sacabocados metálico. Las dimensiones de las muestras fueron de 10 mm de diámetro y 10 mm de altura. Los cilindros de queso se tomaron perpendicularmente a la dirección del deshebrado de la tira, cuyo diámetro fue de aproximadamente 3 cm. Se empleó el analizador de textura TA Xt2i (Stable Micro Systems; Surrey, U), con una celda de carga de 5 kg. Las muestras se comprimieron uniaxialmente a una deformación del 50 % utilizando un disco acrílico de 35 mm de diámetro (A/BE35) a velocidad pre ensayo, ensayo y postensayo del cabezal de un mm·s. A partir de las curvas de fuerza vs tiempo,

se determinaron la dureza, la adhesividad, la cohesividad, el resorteo, y la masticabilidad de los quesos.

2.6. Medición de color

El color de los quesos se midió utilizando un espectrofotómetro MiniScan 45/0 LAV (HunterLab, Hunter Associates Laboratory, EE. UU). Se obtuvieron los valores de L^* , a^* , b^* utilizando la escala CIELAB, con D65 como iluminante, y con un ángulo del observador de 10° . Se calcularon el tono y la pureza del color, $(\tan^{-1} (b^* \cdot a^{*-1}))$, $(a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$.

2.7. Análisis microbiológico

Se pesaron 25 gramos de queso y se licuaron con 225 mL de una solución estéril de agua peptonada (DIBICO® S.A de C.V., México) al 0.1 % (p/v) en una licuadora Oster modelo 450-20 (Sunbeam Mexicana, S.A. de C.V.) durante 1 min, a velocidad baja, y 1 min a velocidad alta. Se prepararon ocho diluciones: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} y 10^{-8} , usando una solución estéril de agua peptonada al 0.1 % (p/v) y se sembraron por triplicado en placa y en tubo, dependiendo del tipo de análisis. Las diluciones sembradas dependieron de la carga estimada de microorganismos que pudieran estar presentes en el Quesillo, información que se determinó de acuerdo a la cuenta encontrada en los primeros muestreos.

Los microorganismos que se cuantificaron por estar relacionados con el deterioro y el manejo del producto fueron: bacterias mesófilas aerobias, bacterias coliformes totales, bacterias coliformes fecales (*Escherichia coli*), así como mohos y levaduras.

También se evaluó la presencia de *Salmonella spp.*, y de *Staphylococcus aureus*, por ser bacterias patógenas relacionadas con la inocuidad del producto. Se siguió la metodología expuesta por las respectivas normas concernientes a cada microorganismo; sin embargo, se modificó el método de siembra en placa, ya que se utilizó la técnica de sembrado en espiral con deposición exponencial mediante un sembrador automático (Autoplate® Spiral Plating System). El volumen sembrado de cada dilución dependió de la carga estimada del microorganismo en el producto. Para el conteo de los microorganismos se utilizó un contador automático de colonias (Color QCount Automated Colony Counter Software Version 2.4). De esta manera se pudo trabajar simultáneamente con un mayor número de muestras.

El conteo de bacterias mesófilas aerobias se efectuó mediante conteo en placa en agar nutritivo (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México), de acuerdo con la NOM-092-SSA1-1994. Se sembraron, por triplicado, 20 µL de las diluciones decimales correspondientes a -4, -6 y -8 para cuajada fermentada; y de -2, -4 y -6 para queso. Las cajas sembradas fueron mantenidas a 35 °C por 24 horas.

El conteo de bacterias coliformes totales se efectuó mediante conteo en placa en agar Rojo Violeta Bilis (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México) de acuerdo con la NOM-113-SSA1-1994. Se sembraron 200 µL de las diluciones decimales correspondientes a -1, -3 y -5 para queso; y a -2, -4 y -6 para cuajada. Las cajas sembradas fueron mantenidas a 35 °C por 24 horas.

El conteo de mohos y levaduras se efectuó mediante conteo en placa en agar Papa Dextrosa acidificado (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México),

según las especificaciones de la NOM-111-SSA1-1994. Se sembraron 200 μL de las diluciones correspondientes a 10^{-1} , 10^{-3} y 10^{-5} para queso y cuajada. Las cajas sembradas fueron mantenidas a 25 °C por 72 horas para el conteo de levaduras y de 5 días para mohos.

El conteo de coliformes fecales (*E. coli* presuntivo) se realizó mediante la técnica de Número más probable empleando Caldo Lauril Sulfato de Sodio con MUG (BBL, Becton, Dickinson and Company, EUA.), según lo establecido por la ISO 11866-1:2012. Se sembraron las diluciones correspondientes a 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} , para queso y cuajada. Los tubos se mantuvieron a 35 °C por 24 horas. Después de transcurrido ese tiempo se revisó la producción de gas en campana Durham, la fluorescencia mediante luz UV a 360 nm, y la producción de indol, utilizando reactivo de Kovacs.

La detección de *Salmonella* spp. se realizó según lo establecido por la NOM-114-SSA1-1994. La dilución 10^{-1} se incubó a 35 °C durante 48 horas como preenriquecimiento. Transcurrido ese tiempo se sembró 1 mL del medio preenriquecido en un tubo que contenía 10 mL de Caldo Tetraciónato (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México) y en otro con 10 mL de Caldo Selenita Cistina (Difco™ Becton Dickinson, USA), mismos que fueron incubados a 35 °C por 24 horas, constituyendo el enriquecimiento selectivo.

De los medios enriquecidos se tomaron asadas y se aisló la bacteria sembrando por estría cruzada en tres agares selectivos: Sulfito de Bismuto (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México), Entérico Hecktoen (DIFCO) y Xilosa

Lisina Desoxicolato (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México) que se incubaron a 35 °C por 48 horas para el primero y por 24 horas para los restantes.

Se escogieron tres colonias que presentaron las características coloniales típicas de *Salmonella* en cada medio selectivo para realizarles pruebas bioquímicas y, en su caso, serológicas. Las colonias sospechosas se inocularon, por estría en la superficie inclinada y por punción en el fondo, en tubos con Agar de Triple Azúcar y Hierro (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México) y de Hierro y Lisina (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México). Las colonias presuntamente positivas en estos medios se inocularon en Caldo Urea (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México). Los tubos se mantuvieron en incubación a 35 °C por 24 horas.

Por último se realizó la prueba serológica a las colonias que dieron reacciones bioquímicas positivas de *Salmonella* spp. Se utilizó el antisuero *Salmonella* O Grupo A Factor 1, 2, 12 serotipo Paratyphi A 1, 2, 12 y Paratyphi A 2, 12 var. Durazo (BD Difco™).

El conteo de *Staphylococcus aureus* se efectuó mediante conteo en placa en agar Baird Parker enriquecido con yema de huevo y Telurito de potasio al 10 %, según las especificaciones de la NOM-115-SSA1-1994. Se sembraron 200 µL de las diluciones 10^{-2} , 10^{-4} y 10^{-6} para cuajada; y de 10^{-1} , 10^{-3} y 10^{-5} para queso.

Las cajas sembradas se mantuvieron a 35 °C por 48 horas, se contó el número total de colonias presentes y se diferenciaron aquellas colonias que mostraron las características típicas.

Se efectuó la prueba de la coagulasa a bacterias de tres colonias sospechosas cuando el conteo por placa fue menor a 50 colonias sospechosas; 5 cuando fue de 51 a 100, y 7 cuando se tuvieron de 101 a 150. Dichas colonias fueron sembradas en 3 mL de Caldo Infusión Cerebro-Corazón (BDBioxon®, Becton Dickinson de México S.A de C.V., México) y se incubaron a 35-37 °C durante 24 horas.

Posteriormente, se realizó la prueba de la coagulasa para lo que se emulsionó una asada del caldo en una gota de solución salina estéril al 0.85 % y posteriormente se añadió una gota de plasma fresco de conejo para prueba de coagulasa (Microlab). Las pruebas positivas se consideraron para realizar los cálculos correspondientes.

2.8. Análisis estadístico

Para el análisis del tratamiento térmico se consideró un diseño en bloques completos al azar (Montgomery, 1991). Para el análisis de la calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche se utilizó un diseño en bloques completos al azar con arreglo de parcela dividida, en donde la parcela mayor fue la época del año y la parcela menor fue la quesería.

Para el análisis estadístico de las pruebas microbiológicas se consideró un diseño en bloques al azar con arreglo en parcelas subdivididas, considerando como parcela grande a la temporada, como parcela mediana a la quesería y el tratamiento térmico como parcela chica. Los bloques fueron cada uno de los lotes de queso analizados debido a que no existe estandarización de los procesos en las queserías artesanales de estudio. Se realizó un análisis de varianza a los resultados de las mediciones fisicoquímicas y microbiológicas

(cuenta de bacterias mesófilas aerobias y coliformes totales) de las leches para identificar diferencias estadísticas ($p < 0.05$). Se usó la prueba de diferencia honesta significativa (DHS) de Tukey para las comparaciones de medias. Los datos se analizaron con el paquete SAS versión 9.1 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, EEUU).

3. RESULTADOS

3.1. Tratamiento térmico a la masa quesera

Para determinar que el proceso de fermentación ha terminado y la cuajada está lista para ser estirada se determina del “punto”. La prueba se basa en los atributos sensoriales de sabor (sabor ácido), apariencia (pasta con apariencia lisa y brillante), así como por textura en mano (sensación elástica y chiclosa) y en boca (sensación elástica que genera un rechinado al masticarse). Las características de sabor y textura en el Quesillo dependen del “punto” alcanzado.

Las maestras queseras mencionan que cuando una cuajada está “pasada del punto”, el Quesillo tiene un sabor más ácido y una textura más blanda; en ese caso, el proceso de amasado se requerirá de agua a menor temperatura y el tiempo se acortará. Por el contrario, si la cuajada no ha alcanzado “el punto”, el Quesillo no tendrá el sabor esperado; además, se requerirá de una mayor temperatura y tiempo de amasado para la formación de la hebra, y es posible que la cuajada no estire.

El tratamiento térmico que se da a la masa quesera fermentada se realiza mediante la utilización de agua caliente (aproximadamente de 90 °C). El agua se agrega a la cuajada fermentada que ha sido quebrada (desmenuzada) con anticipación. El amasado (majado) se realiza empleando una pala de madera, presionando la pasta contra el recipiente hasta que la pasta se torne lisa y elástica. La temperatura del agua caliente

adicionada disminuye conforme ocurre el proceso de malaxado, una segunda adición de agua caliente dependerá del “punto” alcanzado por la cuaja al momento de realizar el amasado.

La propiedad termoplástica de este queso se debe a la disminución del pH de la cuajada durante la fermentación, lo que favorece la desmineralización de las micelas de caseína. Lucey *et al.* (2003) mencionan que el proceso de cocimiento y estiramiento confiere a la cuajada una apariencia plástica y promueve la formación de una estructura fibrosa.

En este estudio se encontró que no existió diferencia estadística en el nivel de pH alcanzado por la cuajada en ambas queserías ($p>0.05$). No obstante, en la quesería B, en la temporada de secas, se requirió de un tratamiento térmico más severo. Esto sugiere que “el punto” no está en función únicamente del pH alcanzado por la cuajada, sino que se relaciona también con el nivel de fosfato de calcio que está presente en la matriz de proteína y que es percibido sensorialmente por los maestros queseros.

Lucey *et al.* (2003) mencionan que además del pH, el contenido de calcio no disuelto influye en la textura del queso. Sugieren, usando el modelo de Horne, que incluso si el contenido total de calcio de dos quesos (hipotéticamente) fuera similar, los quesos con una menor proporción de fosfato de calcio coloidal podrían exhibir características de un queso con menor pH (v. g. más fundible). Esto implica que los quesos con una menor cantidad de cadenas de calcio fundirán más rápido y a menor temperatura de calentamiento. La desmineralización de la matriz de proteína es mayor

en quesos acidificados mediante la fermentación con un cultivo iniciador que aquéllos elaborados por acidificación directa mediante ácidos orgánicos (acidulación).

En la Figura 1 se representa el tratamiento térmico promedio de las dos temporadas evaluadas que se da a la masa quesera durante el malaxado, con cambio de agua caliente en la quesería A, y sin cambio de agua caliente en la quesería B. En la quesería A, durante la temporada de lluvias, el tratamiento térmico que se dio a la masa quesera inició en 45 °C por dos minutos; después de este tiempo se realizó un cambio de agua caliente y la masa alcanzó entre 52 y 54 °C por 3.1 minutos, finalmente se mantuvo entre 49 y 51 °C por 1.7 minutos. El proceso de malaxado duró aproximadamente 7 minutos. Inmediatamente después del amasado, la pasta fue estirada y colocada sobre una mesa o sumergida en agua fría (~ 18 °C), esto para evitar tanto daños en la textura como el que las correas se adhirieran entre sí. La maestra quesera comentó que cuando la pasta está “pasada del punto” es imprescindible el enfriamiento de las correas mediante sumersión en agua fría (~ 18 °C).

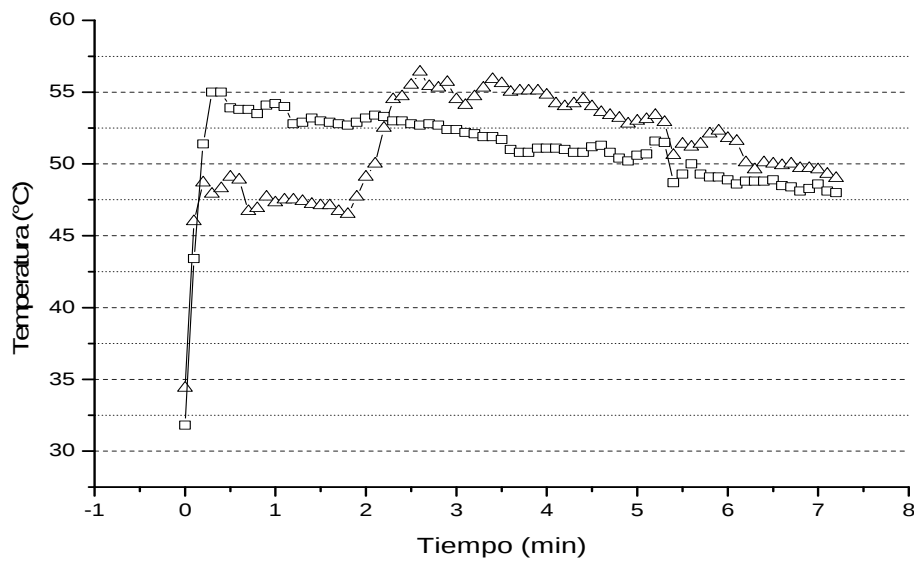


Figura 1. Tratamiento térmico sin cambio (Δ) y con un cambio de agua caliente (□) que se da a la pasta quesera durante el amasado para la elaboración de Quesillo.

Para la misma quesería, en la temporada de secas la temperatura inicial alcanzada fue de 49 °C por 2.5 minutos, después de la adición de agua caliente la temperatura se elevó hasta 55 °C por 2.5 minutos hasta disminuir a 49 °C y mantenerse así por minuto.

En la que serían B, durante la temporada de lluvias, la masa quesera alcanzó 49 °C durante dos minutos, posteriormente disminuyó hasta 47 °C y se mantuvo así por siete minutos. Durante esta temporada no se realizó ningún cambio de agua durante el amasado. Para la temporada de secas, la masa quesera alcanzó 55 °C por 3.2 minutos, posteriormente disminuyó entre 52 y 54 °C por 2 minutos. En este momento se realizó un cambio de agua caliente y la pasta alcanzó entre 56 y 58 °C por 1.7 minutos. Esta segunda adición de agua caliente únicamente se llevó a cabo en la elaboración del Quesillo de la temporada de secas debido a que la maestra quesera se percató que la masa fermentada aún no había alcanzado el punto al momento del malaxado.

Maldonado *et al.* (2013) mencionan que la temperatura de estirado, en los quesos de acidificación directa, provee una medida indirecta de las redes de caseína en la cuajada antes del proceso de estirado. Cuando la red de paracaseína es más fuerte, se requiere de una temperatura más alta para el estiramiento de la cuajada para que el queso sea estirado. Debido a que la red de caseína es más fuerte a pH alto, por una mayor presencia de calcio en la micela caseínica, se requiere de más calor y energía (y temperatura en la pasta), para lograr la textura adecuada.

Con la finalidad de comparar el tratamiento térmico que se dio a la masa quesera, entre las queserías y temporadas, se realizó el análisis estadístico, para lo que se tomaron como referencia los valores promedio de temperatura y tiempo de sostenimiento obtenidos de cada muestra de quesillo estudiada. Según se observa en el Cuadro 2 existió efecto de la temporada ($p < 0.05$) en la temperatura alcanzada por la masa quesera siendo superior en la temporada de secas, mientras que el tiempo de sostenimiento se mantuvo.

Cuadro 2. Tiempo de sostenimiento y temperatura alcanzada durante el amasado (por quesería y época del año) (Promedio $\pm$ desviación estándar).

Quesería	Tiempo (min)		Promedio quesería	Temperatura (°C)		Promedio quesería
	Lluvias	Secas		Lluvias	Secas	
A	7.0 ± 1.5^x	4.4 ± 1.0^x	5.7 ± 1.8^x	50.9 ± 2.9^x	53.6 ± 1.7^x	52.2 ± 2.6^x
B	6.3 ± 2.6^x	5.7 ± 1.9^x	6.0 ± 2.2^x	49.1 ± 2.0^x	56.6 ± 4.1^x	52.4 ± 4.8^x
Promedio temporada	6.7 ± 2.0^x	5.0 ± 1.5^x		50.0 ± 2.5^x	54.9 ± 3.2^y	

Medias en columnas con superíndices diferentes (x, y) fueron estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$).

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

En la quesería B, durante la época de secas, se presentó la mayor temperatura de amasado (56.61 ± 4.10 °C por 5.7 ± 1.91 minutos). Lo anterior generó un Quesillo con efectos desfavorables en la apariencia (textura, a la vista y al tacto, dura, rugosa y seca, que dio origen a un queso rallable) y la funcionalidad del Quesillo (cocido de la pasta que alteró la capacidad para fundir).

El empleo de un tratamiento térmico más severo se debió a que la cuajada se dejó fermentar menos tiempo del requerido para alcanzar el nivel de desmineralización necesario, por lo que se requirió de una temperatura más alta para lograr la formación de la hebra. De esta manera también se tuvo un producto con menos humedad, lo que es consecuencia de una mayor sinéresis de la pasta; lo que se favorece debido al aumento en la temperatura de amasado y estirado, aunado a la mayor presión que se ejerce sobre la cuajada para la formación de la hebra (Fox *et al.*, 2000).

El pH al que se realiza el estiramiento en este queso concuerda con lo explicado por Gunasekaran y Mehmet (2003). Ellos señalan que para un estiramiento óptimo de la cuajada en quesos de pasta filata hay una combinación óptima de pH de la cuajada y temperatura de estiramiento. Se ha encontrado que la cuajada a pH 5.1-5.4 debe ser colocada para el estiramiento en agua con una temperatura de 70 a 82 °C. La temperatura de la cuajada es normalmente cercana a 55-60 °C. Se ha reportado una reducción de las propiedades elásticas de queso Mozzarella cuando la temperatura de estiramiento de la cuajada se incrementó de 57 a 75 °C.

Otro efecto de la alta temperatura de estiramiento es el incremento de la inactivación de organismos proteolíticos y de enzimas residuales, así como una

reducción en la proteólisis primaria y secundaria durante la maduración. El método de estiramiento de la cuajada también mostró afectar las propiedades del queso (Yun *et al.*, 1994).

Desde el punto de vista microbiológico, los datos encontrados revelan que no se alcanza la temperatura y el tiempo de pasteurización. Debe tomarse en cuenta que a pesar que el efecto de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) en humanos no es conocido, es un agente causal de enfermedad en el ganado, y como precaución, el diseño de la pasteurización de la leche y de los productos lácteos deberá considerar la resistencia térmica de esta bacteria. El valor-D en leche a 63, 66, y 72 °C es 15, 5.9, y menor que 2.03 s, respectivamente, y el valor-Z es 8.6 °C, sin embargo se han obtenido valores-D mucho más altos en leche ($D_{63\text{ °C}}$ 1.6-2.5 min). *Coxiella burnetii* (el agente causal de la fiebre Q) tiene valores-D de 4.14 min a 62.8 °C y 2.21 s a 7.17 °C, y un valor $Z= 4.34\text{ °C}$ en leche. El estándar de pasteurización de alta temperatura corto tiempo, por el cual la leche es mantenida a 71.7 °C por al menos 15 s (un proceso equivalente a 62.7 °C por 30 minutos), fue diseñado para obtener una reducción de 5-log en el número de microorganismos viables en leche. Pasteurizaciones de 72 °C por 15 s, 75 °C por 20 s, y 78 °C por 25 s resultaron en una reducción de 4 a >6-log en MAP (Silva *et al.*, 2014).

En el Cuadro 3 se muestran los valores D y Z para los microorganismos considerados en el presente estudio. Debe notarse que estos valores cambian en queso, es decir que el tratamiento térmico aumenta en función del porcentaje de sólidos del medio de calentamiento.

Cuadro 3. Valores de inactivación térmica para *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp, y *S. Typhimurium* en diferentes medios de calentamiento.

Organismo	Medio de calentamiento	Temperatura (°C)	D (min)	Z (k)
<i>E. coli</i> patogénica	Leche descremada	55	5.5	N.R.
	Leche entera	55	6.6	N.R.
	Leche cruda	57.2	1.3	N.R.
<i>E. coli</i>	Leche descremada	63	0.13	4.6
	Suero, pH 4.6	63	0.26	6.7
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Medio de laboratorio +10	51.4	49	N.R.
	% de sólidos	54.7	7.5	N.R.
		55.2	4.7	N.R.
		55.7	3.2	N.R.
<i>Salmonella</i> (6 spp.)	Leche descremada	63	0.6-0.1	4.0-5.2
	Leche	50	10	N.R.
<i>S. aureus</i>	Leche reconstituida al 10 %	54.5	27	N.R.
	Leche	55	3	N.R.

N. R. = No reportado.

Fuente: Adaptado de Condrón *et al.* (2009) y Walstra *et al.*, 2006.

En un queso Oaxaca modelo, Medina-Villalva (2008) halló que la pasta del queso se pasteurizó (prueba de la fosfatasa alcalina negativa; es decir, la enzima se inactivó) cuando la temperatura promedio de la masa fue superior a 55 °C y el tiempo de sostenimiento, esto es de amasado, fue mayor de 8 minutos (en condiciones de experimento). Los resultados mostraron que el mejor tratamiento, sobre la prueba de fosfatasa y calidad tanto sensorial como microbiológica, fue el de agua a 75 °C, seguido del tratamiento a 70 °C, encontrando una carga de bacterias coliformes de 4.6 log₁₀ ufc·g⁻¹. En dicho estudio se realizaron tres cambios de agua.

3.2. Análisis químico proximal

No se encontró efecto de la temporada, de la quesería ni de su interacción en el contenido de proteína, humedad, grasa, y sólidos totales del Quesillo ($p>0.05$). La composición del Quesillo se presenta en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Composición proximal del Quesillo (por quesería y época del año) (Promedio $\pm$ desviación estándar).

Parámetro	Quesería	Lluvias	Secas	Promedio quesería
Humedad (%)	A	47.00 $\pm$ 2.05 ^x	47.27 $\pm$ 1.18 ^x	47.14 $\pm$ 1.59 ^x
	B	47.50 $\pm$ 2.31 ^x	44.79 $\pm$ 1.42 ^x	46.15 $\pm$ 2.30 ^x
	Promedio temporada	47.25 $\pm$ 2.08 ^x	46.03 $\pm$ 1.80 ^x	
ST (%)	A	53.00 $\pm$ 2.05 ^x	52.73 $\pm$ 1.18 ^x	52.86 $\pm$ 1.59 ^x
	B	52.50 $\pm$ 2.31 ^x	55.21 $\pm$ 1.42 ^x	53.85 $\pm$ 2.30 ^x
	Promedio temporada	52.75 $\pm$ 2.08 ^x	53.97 $\pm$ 1.80 ^x	
Proteína (%)	A	21.16 $\pm$ 1.12 ^x	20.43 $\pm$ 1.66 ^x	20.80 $\pm$ 1.39 ^x
	B	21.20 $\pm$ 2.21 ^x	25.98 $\pm$ 4.66 ^x	23.59 $\pm$ 4.27 ^x
	Promedio temporada	21.18 $\pm$ 1.66 ^x	23.20 $\pm$ 4.41 ^x	
Grasa (%)	A	26.78 $\pm$ 3.36 ^x	27.22 $\pm$ 2.49 ^x	27.00 $\pm$ 2.80 ^x
	B	25.05 $\pm$ 2.89 ^x	23.83 $\pm$ 6.18 ^x	24.44 $\pm$ 4.59 ^x
	Promedio temporada	25.91 $\pm$ 3.09 ^x	25.53 $\pm$ 4.79 ^x	
Cenizas (%)	A	3.28 $\pm$ 0.12 ^x	2.91 $\pm$ 0.29 ^x	3.10 $\pm$ 0.29 ^x
	B	3.76 $\pm$ 0.44 ^x	4.60 $\pm$ 1.35 ^x	4.19 $\pm$ 1.04 ^y
	Promedio temporada	3.52 $\pm$ 0.39 ^x	3.76 $\pm$ 1.28 ^x	
NaCl (%)	A	1.58 $\pm$ 0.20 ^x	1.53 $\pm$ 0.33 ^x	1.56 $\pm$ 0.26 ^x
	B	2.16 $\pm$ 0.29 ^x	2.29 $\pm$ 0.51 ^x	2.22 $\pm$ 0.40 ^y
	Promedio temporada	1.87 $\pm$ 0.39 ^x	1.91 $\pm$ 0.57 ^x	
Calcio (mg*100 g⁻¹)	A	655.36 $\pm$ 13.10 ^x	786.36 $\pm$ 67.12 ^{ax}	720.865 $\pm$ 85.31 ^x
	B	613.88 $\pm$ 44.43 ^x	361.01 $\pm$ 44.11 ^{by}	427.44 $\pm$ 150.40 ^x
	Promedio temporada	634.6225 $\pm$ 35.90 ^x	573.69 $\pm$ 249.91 ^x	

Medias en filas con superíndices diferentes (a, b) fueron estadísticamente diferentes ($P\leq 0.05$).

Medias en columnas con superíndices diferentes (x, y) fueron estadísticamente diferentes ($P\leq 0.05$).

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

Según lo estipulado por la NMX-F-733-COFOCALEC-2012 para queso Oaxaca, el contenido de humedad está dentro del límite (51 % máx.); el contenido de proteína está ligeramente por debajo (21.5 mín), a excepción del quesillo de la quesería B de la época de secas, y el contenido de grasa está por encima del límite (20 mín.).

El contenido de humedad en quesos de pasta filata es afectado por varios factores como la temperatura de cocido (a mayor temperatura menor humedad), el contenido de sal (a mayor contenido de sal menor humedad), la velocidad de rotación durante el mezclado y estirado, y el tiempo de elaboración, que será mayor cuando existe una lenta producción de ácido (Kindstedt *et al.*, 1992; Yun *et al.*, 1993; Renda *et al.*, 1997), entre otros.

Sí existió efecto de la quesería en el contenido de sal ($p < 0.05$) que se adiciona al Quesillo, con 1.55 ± 0.25 % en la quesería A y un 2.22 ± 0.39 % en la quesería B. Este aumento tuvo el mismo efecto en el contenido de cenizas, ya que se tuvo un 3.09 ± 0.28 para la quesería A y un 4.18 ± 1.04 % para la B.

Dicha variación es importante debido a que el contenido de sal en los quesos tiene múltiples repercusiones, entre las que se encuentran: su relación con el sabor, ya sea directamente (quesos con 0.8 % de sal se consideran insípidos), como indirectamente (por su efecto inhibidor en la actividad enzimática y microbiana); tiene efecto sobre la textura debido a que causa cambios en las proteínas; favorece la sinéresis de la cuajada, lo cual provoca la reducción de la humedad, con el incremento en el nivel de grasa y proteína. Sin embargo, altos niveles de sal son indeseables por efectos nutricionales. La sal inhibe o retarda el crecimiento y la actividad de los microorganismos, incluyendo a

patógenos y a causantes de intoxicación, por lo tanto incrementa la inocuidad de los quesos (Fox *et al.*, 2000).

Sí existió efecto de la interacción entre la quesería y la época en el contenido de calcio ($p < 0.05$), el menor contenido de calcio se presentó en la quesería B, durante la temporada de secas. El bajo contenido de calcio pudo deberse al efecto del tratamiento térmico más severo que recibió esta muestra durante el malaxado de la pasta, ya que la alta temperatura, el proceso de acidificación por fermentación, la disminución del pH, y el lavado durante el cocido y estirado de la pasta, favorecen la solubilización del fosfato de calcio micelar (Lucey, 1993).

En el Cuadro 5 se presenta la composición del Quesillo y de queso Oaxaca, tanto artesanal como industrial, en esta información comparativa se observa que el Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca presentó el valor más alto en contenido de grasa y estuvo dentro del promedio para proteína, humedad, sal y cenizas. Villanueva *et al.* (2011) reportan el valor más alto en proteína para el queso Oaxaca elaborado en la región de Aculco, Estado de México.

Cuadro 5. Composición de Quesillo, queso Oaxaca e imitación de queso Oaxaca de diferentes marcas y regiones de México.

Parámetro		QREO	QOAEM	QOAEM	QOVT	QOI (31 marcas)	IQOI (13 marcas)
Grasa (%)	Intervalo	23.8- 27	17 - 25.3	NR	NR	11-29	19-27
	Media	25.7	18.8	22.17	22.4	21.6	23.6
Proteína (%)	Intervalo	20.4-25.8	15 - 24.1	NR	NR	18 - 26	11-20
	Media	22.19	20.3	28.4	21.3	22.1	15.76
Humedad (%)	Intervalo	44.7-47.5	42.8 - 61	NR	NR	41 - 61	46-52
	Media	46.6	51.1	35.9	50.8	50.4	49.5
Sal (NaCl) (%)	Intervalo	1.53-2.29	0.84 - 3.6	NR	NR	NR	NR
	Media	1.89	1.52	1.75	NR	NR	NR
Cenizas (%)	Intervalo	2.91-4.6	0.18 - 4.1	NR	NR	NR	NR
	Media	3.6	NR	NR	4.6	NR	NR
Fuente	Datos experimentales	M. de Oca <i>et al.</i> (2009)	Villanueva <i>et al.</i> (2011)	García (2006)	PROFECO (2012)	PROFECO (2012)	

QREO: Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca; QOA: Queso Oaxaca de Aculco, Estado de México; QOVT: Queso Oaxaca Valle de Tulancingo; QOI: Queso Oaxaca industrial; IQOI: Imitación de Queso Oaxaca industrial.
NR No reportado.

El Quesillo de Reyes y los otros quesos artesanales presentaron valores aceptables según la NMX-F-733-COFOCALEC-2012; además, en ningún caso se reporta la utilización de adulterantes o extensores (v. g. almidón o grasa vegetal). En este sentido, es notable que según un estudio realizado por PROFECO (2012), de 36 muestras de queso Oaxaca industrial, se detectaron 16 marcas con adulteración por almidón. Respecto a la composición, 17 marcas incumplieron con los límites establecidos por la norma, pues tuvieron de 2 a 17.6 % más humedad, de 5 a 47 % menos grasa, y de 7 a 16.3 % menos proteína. También, se estudiaron 13 imitaciones de queso Oaxaca cuya composición estuvo en los siguientes intervalos: de 19 a 27 % para grasa; de 9 a 20 %

para proteína; y de 46 a 52 % para humedad. Además del bajo nivel de proteína, se detectó la mezcla de grasa butírica y vegetal, y la presencia de almidón.

El precio del queso Oaxaca industrial es muy variable, para el año 2012 osciló desde 58 hasta 146.6 pesos por kilogramo. Para este mismo año, el queso Oaxaca industrial de imitación año tuvo un precio que varió de 45 a 103.1 pesos por kilogramo (PROFECO, 2012). En contraste, el precio del Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca para el 2015, fue de 90 a 120 pesos por kilogramo, por lo que si se toma únicamente este parámetro en la decisión de compra éste difícilmente puede competir con productos de imitación. En este sentido, PROFECO (2012) encontró que de 16 marcas que presentaron almidón, 13 muestras tuvieron los menores precios con un promedio de 63 pesos por kilogramo. Lo que es notable es que 3 muestras adulteradas presentaron precios de 126 pesos por kg.

Con base en lo encontrado, la relación calidad/precio para el Quesillo de Reyes, Etla Oaxaca resulta adecuada, pues es un producto de alto valor nutritivo y que además se sustenta en un saber hacer tradicional, lo que puede constituir un valor agregado para la comercialización de ese producto.

3.3. Análisis de Perfil de Textura

La textura del queso puede ser definida como el atributo resultante de una combinación de propiedades físicas, incluyendo el tamaño, la forma, el número, la naturaleza y la conformación de los elementos estructurales, que son percibidos por una combinación de sentidos del tacto (textura al tacto), vista (textura a la vista) y oído (textura auditiva) (Delahunty y Drake, 2004).

El Quesillo pertenece a los quesos de pasta filata en los que el proceso de estiramiento de la cuajada induce una orientación de los componentes estructurales lo que origina hebras. El efecto del proceso de estiramiento se ha ilustrado mediante microfotografías electrónicas de barrido. En éstas se observa la formación de un paquete de hebras largas y paralelas de caseína intercaladas con canales que contienen suero, glóbulos de grasa, y cultivo iniciador (Gunasekaran y Mehmet, 2000; Morales-Celaya *et al.*, 2012).

No existió diferencia estadística en la interacción entre temporada y quesería en los parámetros de cohesividad, adhesividad, resorteo, ni gomosidad ($p>0.05$). Los resultados de los parámetros texturales se presentan en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Análisis de perfil de textura del Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca procedente de dos queserías (A y B) y temporadas (lluvias y secas) (Promedio $\pm$ desviación estándar).

Parámetro	Quesería	Temporada	
		Lluvias	Secas
Firmeza (N)	A	6.67 $\pm$ 1.57 ^a	5.87 $\pm$ 0.99 ^a
	B	2.79 $\pm$ 0.82 ^b	6.20 $\pm$ 2.13 ^a
Cohesividad	A	0.78 $\pm$ 0.05 ^a	0.47 $\pm$ 0.05 ^a
	B	0.61 $\pm$ 0.08 ^a	0.35 $\pm$ 0.07 ^a
Adhesividad (mm)	A	-0.03 $\pm$ 0.01 ^a	-0.82 $\pm$ 0.22 ^a
	B	-0.29 $\pm$ 0.08 ^a	-0.57 $\pm$ 0.15 ^a
Resorteo (mm ²)	A	0.78 $\pm$ 0.01 ^a	0.74 $\pm$ 0.12 ^a
	B	0.76 $\pm$ 0.05 ^a	0.58 $\pm$ 0.09 ^a
Gomosidad (N mm)	A	0.61 $\pm$ 0.04 ^a	0.35 $\pm$ 0.07 ^a
	B	0.47 $\pm$ 0.08 ^a	0.21 $\pm$ 0.06 ^a

Medias en filas con superíndices diferentes (x, y) fueron estadísticamente diferentes ($P\leq 0.05$).

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

El Quesillo de la quesería B durante la temporada de lluvias presentó la menor firmeza ($p < 0.05$). Sin embargo, no existió diferencia en el porcentaje de proteína, grasa, y sal que pudieran explicar este comportamiento. Sí existió diferencia en el contenido de calcio, pero la muestra con la menor concentración no correspondió con la muestra menos firme, como se esperaba. Tampoco existió diferencia en el pH de la pasta al momento del amasado. Esta muestra presentó la mayor población de mohos y levaduras ($1.77 \log_{10} \text{ ufc} \cdot \text{g}^{-1}$) y de bacterias coliformes totales ($6.35 \log_{10} \text{ ufc} \cdot \text{g}^{-1}$). Esto pudiera corresponder con lo reportado por Walstra *et al.* (2006) quienes mencionan que pueden existir efectos desfavorables en la textura del queso debido a la capacidad proteolítica de bacterias coliformes.

Se esperaría que el queso menos firme presentara el menor pH, ya que en los quesos de pasta filata el rol del pH en la textura del queso es particularmente importante porque se relaciona directamente con cambios químicos en la red de proteína de la cuajada. Cuando el pH de la cuajada disminuye, hay una pérdida concomitante de fosfato de calcio coloidal de las micelas de caseína y, por debajo de 5.5, ocurre una disociación progresiva de las submicelas a agregados pequeños. La solubilización de fosfato de calcio coloidal, entre otros factores, afecta la textura de la cuajada, la elasticidad y la fundibilidad (Singh y Cadwallader, 2008).

3.4. Medición de color

En general, los valores de tono variaron desde 79.65 hasta 83.69 °, lo cual indica que las tonalidades se aproximan al amarillo (90 °), tal como se observa en el Cuadro 7. Es importante considerar que el color de un material opaco, generalmente, es el

resultado de la dispersión y la absorción de la luz visible. El color de la leche, y especialmente de la mantequilla y del queso, depende principalmente de la presencia de carotenoides (v. g. β -caroteno y xantofilas) en la fracción grasa. Además de su contenido en pigmentos, el color depende principalmente del alimento (los pastos producen color amarillo, mientras que la alfalfa produce grasa blanca) (Walstra *et al*, 2006; Chandan, 2008).

Cuadro 7. Valores de luminosidad, ángulo de tono¹ y pureza del Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca procedente de dos queserías (A y B) y temporadas (lluvias y secas) (Promedio $\pm$ desviación estándar).

Quesería	Luminosidad		Ángulo de tono ¹		Pureza	
	Lluvias	Secas	Lluvias	Secas	Lluvias	Secas
A	85.12 $\pm$ 1.88 ^x	85.65 $\pm$ 1.10 ^x	81.76 $\pm$ 1.99 ^x	81.54 $\pm$ 1.29 ^x	18.13 $\pm$ 0.88 ^x	19.04 $\pm$ 1.65 ^x
B	81.90 $\pm$ 2.92 ^x	84.94 $\pm$ 1.64 ^x	79.65 $\pm$ 1.01 ^x	83.69 $\pm$ 1.02 ^y	20.37 $\pm$ 1.99 ^x	16.77 $\pm$ 0.73 ^y

¹Ángulo de tono expresado en grados.

Medias en columnas con superíndices diferentes (x, y) fueron estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$).

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

La interacción de la temporada y la quesería tuvo un efecto significativo en la variación del color ($p < 0.05$) para la quesería B. En ésta, el Quesillo presentó un ángulo de tono más alto, asociado al color más amarillo, y fue menos puro durante la temporada de secas. Dicha muestra presentó la mayor temperatura y tiempo tratamiento térmico, lo que pudo influir en la formación de una estructura más compacta (por pérdida de sal y humedad), así como en la aparición de la reacción de Maillard de la lactosa residual en la cuajada.

3.5. a_w y pH

La interacción entre la quesería y el tratamiento térmico resultó significativa en el parámetro de actividad de agua (a_w), tal como se observa en el Cuadro 8. El Quesillo presentó una menor a_w que la cuajada fermentada en ambas queserías, lo que pudo ocurrir por el reacomodo de las redes de caseína que ocurren durante el tratamiento térmico y favorecen la sinéresis en el Quesillo, así como por el salado del queso (Fox, *et al.*, 2000). No existió diferencia estadística en a_w entre queserías en la cuajada fermentada (de 0.993 ± 0.001 para la quesería A, y de 0.991 ± 0.002 para la quesería B).

Cuadro 8. Valores de a_w de la cuajada y del Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca procedente de dos queserías (A y B) y temporadas (lluvias y secas) (Promedio $\pm$ desviación estándar).

Quesería	Cuajada		Promedio quesería	Queso		Promedio quesería
	Lluvias	Secas		Lluvias	Secas	
A	0.994 ± 0.001^{ax}	0.993 ± 0.002^{ax}	0.994 ± 0.002^{ax}	0.977 ± 0.004^{ax}	0.975 ± 0.005^{ax}	0.976 ± 0.004^{ay}
B	0.993 ± 0.001^{ax}	0.990 ± 0.003^{ax}	0.992 ± 0.002^{ax}	0.962 ± 0.006^{ax}	0.956 ± 0.013^{ax}	0.959 ± 0.011^{by}
Promedio temporada	0.994 ± 0.001^{ax}	0.992 ± 0.003^{ax}		0.970 ± 0.009^{ax}	0.966 ± 0.014^{ax}	
Promedio tratamiento	0.992 ± 0.002^x			0.968 ± 0.012^y		

Medias en filas con superíndices diferentes (a, b) fueron estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$).

Medias en columnas con superíndices diferentes (X, Y) fueron estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$).

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

Fox *et al.* (2000) mencionan que la actividad de agua de los alimentos depende de su contenido de humedad y de la concentración de solutos de bajo peso molecular. Otros componentes, además del NaCl, que contribuyen a la disminución de la a_w son los ácidos, como el láctico y otros, los aminoácidos, los péptidos muy pequeños, y el fosfato de calcio, especialmente en quesos extra madurados.

El valor de a_w del Quesillo fue diferente estadísticamente entre las queserías ($p<0.05$), encontrando que la a_w de la quesería B fue inferior a la encontrada en la quesería A. Lo anterior pudo deberse a un contenido de sal más elevado presente en el Quesillo de la quesería B, pues en quesos poco madurados la actividad de agua se determina casi enteramente por la concentración de NaCl en la fase acuosa (Marcos, 1993).

Por su parte, el pH del queso es un parámetro fisicoquímico muy importante que afecta la textura del queso, su flavor y su inocuidad. Está determinado por el efecto combinado de la acidificación por organismos iniciadores, por la desacidificación durante la maduración por organismos secundarios, y por capacidad buffer de la cuajada (Berestford, 2007).

En el Quesillo, al igual que en el queso Mozzarella, el suero es drenado de la cuajada sin acidificar (pH ~ 6.15), misma que posteriormente se acidifica (por fermentación) hasta alcanzar un pH de ~ 5.13 (muy cercano al pH ~ 5.15 que es el ideal para efectuar el proceso de plastificación). A este pH, los factores que favorecen una texturización exitosa son: la concentración de calcio en la cuajada (~ 27 mg/ g proteína); el aumento de la proporción de calcio soluble a calcio micelar (que pasa de ~ 5 a 40 % del total); así como el aumento de la hidratación de la paracaseína (Guinee, 2003). Sin embargo, el tratamiento térmico generó un aumento en el valor de pH en el Quesillo terminado ($p<0.05$). Este comportamiento puede explicarse por un efecto de lavado de la pasta durante el malaxado que pudo diluir parte del ácido láctico formado durante la fermentación. Los valores de pH alcanzados se presentan en el Cuadro 9.

Cuadro 9. Valores de pH de la cuajada fermentada y del Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca procedente de dos queserías (A y B) y temporadas (lluvias y secas) (Promedio $\pm$ desviación estándar).

Quesería	Cuajada		Promedio quesería	Queso		Promedio quesería
	Lluvias	Secas		Lluvias	Secas	
A	5.08 $\pm$ 0.06 ^x	5.09 $\pm$ 0.07 ^x	5.08 $\pm$ 0.06 ^x	5.47 $\pm$ 0.13 ^x	5.38 $\pm$ 0.10 ^x	5.42 $\pm$ 0.12 ^x
B	5.16 $\pm$ 0.17 ^x	5.19 $\pm$ 0.15 ^x	5.17 $\pm$ 0.15 ^x	5.43 $\pm$ 0.17 ^x	5.47 $\pm$ 0.15 ^x	5.45 $\pm$ 0.15 ^x
Promedio temporada	5.12 $\pm$ 0.13 ^x	5.14 $\pm$ 0.12 ^x		5.45 $\pm$ 0.14 ^x	5.42 $\pm$ 0.13 ^x	
Promedio tratamiento	5.13 $\pm$ 0.12 ^x			5.44 $\pm$ 0.13 ^y		

Medias en columnas con superíndices diferentes (x, y) fueron estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$).

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

En el Quesillo, tal como mencionan Fox *et al.* (2000) y Walstra *et al.* (2006), el pH de la cuajada disminuye por la fermentación, *in situ*, de la lactosa hacia ácido láctico. Lo cual es llevado a cabo por las bacterias ácido lácticas iniciadoras que quedan atrapadas en la cuajada durante el proceso de elaboración. En este queso artesanal, la flora láctica es nativa de la leche cruda, lo que puede generar variabilidad en la velocidad de acidificación y repercutir en la calidad del producto final. Algunos aspectos importantes sobre el papel de la fermentación en este queso se discutieron en el capítulo 1.

La a_w y el pH son importantes porque, junto con la temperatura, limitan el crecimiento de microorganismos. En general, en los alimentos existen muchos factores que promueven, previenen o limitan el crecimiento de los microorganismos. Estos se dividen en intrínsecos (v. g. a_w , disponibilidad de oxígeno, pH, acidez, el tipo de acidulante, la capacidad buffer, la disponibilidad de nutrientes, la presencia de sustancias naturales antimicrobianas, la presencia y tipo de microbiota natural, entre otros), y extrínsecos (la temperatura, la humedad relativa, la composición de la atmósfera y el

envasado). En conjunto dichos factores crean un nicho que selecciona a los microorganismos específicos que serán dominantes (Foryste, 2000; Dillon, 2014).

Las condiciones finales de a_w , pH, así como la temperatura durante la fermentación y en el almacenamiento ($\sim 20^\circ\text{C}$) del Quesillo no están por debajo del límite para el crecimiento de los microorganismos patógenos de estudio tal como se observa en el Cuadro 10.

Cuadro 10. Valores de pH, a_w y temperatura de crecimiento de *Salmonella* spp., *E. coli* y *S. aureus*.

Patógeno	pH			a_w Mínima	Temperatura de crecimiento ($^\circ\text{C}$)		
	Mínimo	Óptimo	Máximo		Mínima	Óptima	Máxima
<i>Salmonella</i> spp.	3.8	7 – 7.5	9.5	0.94	7	35-43	46
<i>E. coli</i>	2.5-3.0* 4.4	7 – 7.5	9.5	0.935-0.95	7	37	48
<i>S. aureus</i>	4	6-7	10	0.86	7	35-40	48
<i>S. aureus</i> (Producción de toxinas)	4	N.R.	9.8	0.85	10	40-45	48

*Cepas ácido tolerantes

Adaptado de ICMSF, 1996; Fox *et al.*, 2000; Guinee y Fox, 2004.

3.6. Análisis microbiológico

Se realizó un análisis de varianza para evaluar el efecto de la temporada, de la quesería y del tratamiento térmico sobre la población de las bacterias mesófilas aerobias, de coliformes totales, y de levaduras, ya que fueron los únicos microorganismos en los que se pudo obtener un valor puntual. Para el caso de *E. coli* (presuntiva) se tuvieron cuentas por arriba del límite de detección, lo que únicamente permitió determinar intervalos del nivel de las poblaciones.

Para la carga de bacterias mesófilas aerobias la interacción entre la temporada y el tratamiento térmico resultó significativa ($p<0.05$), como se observa en el Cuadro 11. Se encontró que la cuajada fermentada presentó una mayor población durante la temporada de secas que en lluvias. En el Quesillo no se detectó diferencia estadística entre las temporadas. El tratamiento térmico mostró efecto en la disminución de la población de bacterias mesófilas aerobias durante la temporada de secas. El factor quesería no resultó estadísticamente significativo. De manera general, el tratamiento térmico disminuyó la población de bacterias mesófilas aerobias en Quesillo.

Cuadro 11. Efecto del tratamiento térmico, de la quesería y la temporada en la cuenta de bacterias mesófilas aerobias ($\log_{10} \text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$) en Quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca (Promedio $\pm$ desviación estándar).

Quesería	Cuajada fermentada		Promedio quesería	Queso		Promedio quesería
	Lluvias	Secas		Lluvias	Secas	
A	9.83 ± 1.38^x	10.33 ± 1.43^x	10.08 ± 1.35^x	8.76 ± 0.79^x	8.79 ± 0.67^x	8.78 ± 0.68^x
B	9.50 ± 1.40^x	11.90 ± 0.18^x	10.70 ± 1.58^x	8.78 ± 0.67^x	8.44 ± 1.80^x	8.61 ± 1.29^x
Promedio temporada	9.66 ± 1.32^x	11.12 ± 1.27^y		8.77 ± 0.69^x	8.62 ± 1.29^x	
Promedio tratamiento	10.39 ± 1.46^x			8.69 ± 1.01^y		

Medias en columnas con superíndices diferentes (x, y) fueron estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$).

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

El resultado del conteo de bacterias coliformes totales se encuentra en el Cuadro 12. En la cuajada de la quesería A, la población de bacterias coliformes totales en la temporada de lluvias fue igual a la encontrada en la temporada de secas ($p>0.05$). En la cuajada de la quesería B, la población bacterias coliformes totales presentó un aumento estadísticamente significativo durante la temporada de secas ($p<0.05$). La población de

bacterias coliformes totales en Quesillo fue menor que a la encontrada en cuajada en ambas queserías y temporadas ($p<0.05$).

Cuadro 12. Efecto del tratamiento térmico, de la quesería y la temporada en la cuenta de bacterias coliformes totales ($\log_{10}$ ufc·g⁻¹) en Quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca (Promedio $\pm$ desviación estándar).

Quesería	Cuajada fermentada		Promedio quesería	Queso		Promedio quesería
	Lluvias	Secas		Lluvias	Secas	
A	8.33 $\pm$ 0.43 ^{ax}	9.14 $\pm$ 0.44 ^{ax}	8.74 $\pm$ 0.59 ^{ax}	5.02 $\pm$ 1.39 ^{ay}	6.01 $\pm$ 0.53 ^{ay}	5.51 $\pm$ 1.12 ^{ay}
B	7.93 $\pm$ 0.28 ^{ax}	9.86 $\pm$ 1.32 ^{ay}	8.90 $\pm$ 1.36 ^{ax}	6.35 $\pm$ 0.13 ^{by}	5.72 $\pm$ 1.33 ^{ay}	6.03 $\pm$ 0.95 ^{ay}
Promedio temporada	8.13 $\pm$ 0.40 ^x	9.50 $\pm$ 1.00 ^z		5.68 $\pm$ 1.17 ^y	5.86 $\pm$ 0.96 ^y	
Promedio tratamiento	8.82 $\pm$ 1.02 ^x			5.77 $\pm$ 1.05 ^y		

Medias en filas con superíndices diferentes (a, b) fueron estadísticamente diferentes ($P\leq 0.05$).

Medias en columnas con superíndices diferentes (x, y, z) fueron estadísticamente diferentes ($P\leq 0.05$).

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

Sí existió efecto de la interacción entre la temporada y el tratamiento térmico sobre la población de las bacterias coliformes totales ($p<0.05$). Se presentó un aumento estadísticamente significativo en la población de coliformes en cuajada de la temporada de secas. La población de estos microorganismos no varió de forma estadísticamente significativa en el Quesillo ($p>0.05$) entre temporadas. El factor quesería no resultó estadísticamente significativo ($p>0.05$). El tratamiento térmico tuvo efecto en la disminución de la población de bacterias coliformes totales ($p<0.05$).

El aumento en la carga de bacterias mesófilas y en coliformes totales en cuajada durante la temporada de secas fue estadísticamente significativa, lo que pudo deberse a que la temperatura ambiental es mayor en este periodo del año (temperaturas máximas de hasta 36 °C en secas, contra 32 °C en lluvias), lo que favoreció el crecimiento de este

grupo de microorganismos. Las bacterias coliformes totales tuvieron una disminución entre la cuajada y el Quesillo de $3.05 \log_{10} \text{ ufc} \cdot \text{g}^{-1}$, mientras que las bacterias mesófilas aerobias disminuyeron $1.7 \log_{10} \text{ ufc} \cdot \text{g}^{-1}$. Lo anterior demuestra que las bacterias coliformes totales fueron más sensibles al tratamiento térmico, la adición de sal y la disminución de la a_w que ocurre durante el malaxado y el salado de la pasta.

Respecto a la carga de mohos y levaduras, sí existió efecto de la interacción entre la quesería y el tratamiento térmico ($p < 0.05$) en la población de estos microorganismos. La cuajada fermentada la quesería A presentó una menor carga de mohos y levaduras. En el quesillo, la carga de mohos y levaduras de las muestras provenientes de la quesería A y B (Cuadro 13) no mostró diferencia estadísticamente significativa. El tratamiento térmico tuvo efecto en la disminución de mohos y levaduras ($p < 0.05$) con una reducción de $2.61 \log_{10} \text{ ufc} \cdot \text{g}^{-1}$. El promedio de la carga de mohos y levaduras encontradas en el Quesillo está por debajo de $2.69 \log_{10} \text{ ufc} \cdot \text{g}^{-1}$, que es el límite establecido por NOM-243-SSA1-2010 para queso fresco.

Cuadro 13. Efecto del tratamiento térmico, de la quesería y la temporada en la cuenta de mohos y levaduras ($\log_{10} \text{ ufc} \cdot \text{g}^{-1}$) en Quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca (Promedio $\pm$ desviación estándar).

Quesería	Cuajada fermentada		Promedio quesería	Queso		Promedio quesería
	Lluvias	Secas		Lluvias	Secas	
A	$2.14 \pm 1.99^{\text{ax}}$	$2.69 \pm 0.47^{\text{ax}}$	$2.42 \pm 1.39^{\text{ax}}$	$0.56 \pm 1.25^{\text{ax}}$	$1.48 \pm 1.36^{\text{ax}}$	$1.02 \pm 1.33^{\text{ax}}$
B	$6.15 \pm 0.15^{\text{bx}}$	$4.10 \pm 0.60^{\text{ax}}$	$5.13 \pm 1.15^{\text{bx}}$	$1.77 \pm 2.42^{\text{az}}$	$0.86 \pm 1.32^{\text{ax}}$	$1.32 \pm 1.90^{\text{ay}}$
Promedio temporada	$4.15 \pm 2.50^{\text{ax}}$	$3.40 \pm 0.90^{\text{ax}}$		$1.16 \pm 1.93^{\text{ax}}$	$1.17 \pm 1.31^{\text{ax}}$	
Promedio tratamiento	$3.77 \pm 1.87^{\text{x}}$			$1.17 \pm 1.60^{\text{y}}$		

Medias en filas con superíndices diferentes (x, y) fueron estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$). Medias en columnas con superíndices diferentes (a, b) fueron estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$).

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

La carga de mohos y levaduras resultó por debajo de lo esperado para un queso elaborado con leche cruda, ya que se reportan cuentas de 4 a 5 $\log_{10}$ ufc $\cdot$ g⁻¹ para queso Oaxaca comercial (Caro *et al.*, 2013; Saxer *et al.*, 2013; Fuentes *et al.*, 2015).

En cuanto a *E. coli* (presuntiva), se presentaron cargas en la cuajada que van de 2.48 a $> 5.04 \log_{10}$ NMP $\cdot$ g⁻¹ en secas y de 3.59 a $> 5.04 \log_{10}$ NMP $\cdot$ g⁻¹ en lluvias (Cuadro 13). En queso, los intervalos fueron de < 3.59 a $> 5.04 \log_{10}$ NMP $\cdot$ g⁻¹ durante las lluvias y de < 3.48 a $6.38 \log_{10}$ NMP $\cdot$ g⁻¹ en secas. No fue posible establecer que el tratamiento térmico es determinante en la carga encontrada en este microorganismo, ya que en ocasiones se presentó una mayor carga en el Quesillo después de elaborado. Este fenómeno pudo deberse a la calidad del agua que se utiliza para el enfriamiento de la correa, así como a la higiene de las superficies que entran en contacto con la hebra después de llevar a cabo el malaxado. De manera general, se presentó un aumento en la cuenta de este microorganismo durante la temporada de secas, lo que puede atribuirse a que en la quesería se presentó menor higiene y se observó la presencia de moscas que son un vector para la transmisión de bacterias tanto deteriorantes como patógenas (Manrique-Saide y Delfín-González, 1997; Cardozo *et al.*, 2009).

Cuadro 14. Cuenta de *E. coli* (presuntiva) ($\log_{10}$ NMP·g⁻¹) encontradas en cuajada fermentada y en Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca procedente de dos queserías (A y B) y temporadas (lluvias y secas).

Quesería	<i>E. coli</i> presuntiva				
	N	Cuajada		Queso	
		Lluvias	Secas	Lluvias	Secas
A	1	2.48	3.59	>2.48	3.88
	2	2.96	4.32	2.56	3.97
	3	3.97	5.04	3.64	5.04
	4	>5.04	>5.04	3.97	5.04
	5	>5.04	>5.04	3.97	>5.04
B	1	3.63	3.72	3.63	<3.48
	2	3.64	3.98	4.38	4.36
	3	4.18	4.66	>5.04	4.43
	4	>5.04	>5.04	>5.04	4.63
	5	>5.04	>5.04	>5.04	6.38
NOM-243-SSA1-2010			3		
Directiva 92/46/EEC			m=4.69 M= 5.69 n=5, c=2		

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

No existió efecto de la interacción entre la quesería, la temporada y el tratamiento térmico en la población de *Staphylococcus aureus* (Cuadro 15). Durante la temporada de secas se presentó un aumento en la población de *Staphylococcus aureus* tanto en cuajada como en Quesillo en ambas queserías. Únicamente el queso proveniente de la quesería A de la temporada de secas se encuentra por arriba de $3 \log_{10}$ ufc·g⁻¹, límite establecido por la NOM-243-SSA1. Sin embargo, debe tomarse en cuenta que existió una gran variabilidad en la población encontrada en las muestras de cuajada y Quesillo.

Cuadro 15. Efecto del tratamiento térmico, de la quesería y la temporada en la cuenta de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva ($\log_{10}$ ufc·g⁻¹) en Quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca (Promedio $\pm$ desviación estándar).

Quesería	Cuajada		Promedio quesería	Queso		Promedio quesería
	Lluvias	Secas		Lluvias	Secas	
A	0 $\pm$ 0	4.75 $\pm$ 4.34	2.37 $\pm$ 3.82	0.00 $\pm$ 0	4.27 $\pm$ 3.98	2.14 $\pm$ 3.48
B	0 $\pm$ 0	3.64 $\pm$ 4.99	1.82 $\pm$ 3.84	0.00 $\pm$ 0	2.39 $\pm$ 3.39	1.20 $\pm$ 2.59
Promedio temporada	0 $\pm$ 0	4.19 $\pm$ 4.45		0.00 $\pm$ 0	3.33 $\pm$ 3.63	
Promedio tratamiento		2.25 $\pm$ 3.56			1.51 $\pm$ 3.20	

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

El tratamiento térmico no mostró ser suficiente para eliminar la presencia de *Salmonella* spp., ya que se detectó tanto en cuajada fermentada como en el Quesillo (Cuadro 16). En la quesería A, se hallaron dos muestras positivas tanto en la cuajada fermentada como en el Quesillo durante la época de lluvias. En la temporada de secas la presencia de este microorganismo resultó negativa en cuajada fermentada y en Quesillo.

Cuadro 16. Numero de muestras positivas a *Salmonella* spp. en cuajada fermentada (n=5) y en Quesillo (n=5) de Reyes, Etlá, Oaxaca, procedente de dos queserías (A y B) y temporadas (lluvias y secas).

Quesería	Cuajada		Queso	
	Lluvias	Secas	Lluvias	Secas
A	2	0	2	0
B	4	4*	4	2*

* Reacción positiva a prueba serológica para *S. enterica* Paratyphi A.

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

En la quesería B, se hallaron cuatro muestras positivas a *Salmonella* spp. tanto en la cuajada fermentada como en el Quesillo durante la época de lluvias. En la temporada de secas se detectó la presencia de *Salmonella* Paratyphi A en cuatro muestras de cuajada fermentada y en dos muestras de Quesillo.

3.7. Interpretación de resultados según el plan de muestreo

3.7.1. Bacterias mesófilas aerobias

La cuenta total de bacterias mesófilas aerobias es un método utilizado para evaluar la calidad microbiológica de un producto. Una elevada cuenta se relaciona con un déficit dentro de las condiciones de higiene y de sanitización, tanto de la materia prima como en el procesamiento de los alimentos. Los microorganismos que crecen dentro de las bacterias mesófilas aerobias, en un medio no selectivo, incluyen a las bacterias ácido lácticas, las psicótrofas, las termodúricas y formadoras de esporas, y bacterias patógenas (Bintsis *et al.*, 2008). Algunos organismos que ha mostrado un buen crecimiento en agar para métodos estándar a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 18-48 h son *Bacillus subtilis*, *Enterococcus hirae*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* (Anonymous, 2009).

Las muestras de ambas queserías presentan cuentas de bacterias mesófilas aerobias elevadas (7.3 hasta $11.5 \log_{10} \text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$) (Cuadro 17). Sin embargo, esto puede deberse a que el Quesillo es un queso de leche cruda producto de una larga fermentación, por lo que no necesariamente indica contaminación. Angelidis *et al.* (2006) mencionan que en los productos lácteos fermentados la cuenta de bacterias mesófilas aerobias, empleando agar estándar, podría no ser un índice apropiado para medir la contaminación. Lo anterior se debe a que cepas de bacterias lácticas, que son características de estos productos, pueden crecer en este medio generando elevadas cuentas. Asimismo se plantea el uso de medios peptonados libres de azúcar que permitan enumerar selectivamente a la microflora contaminante.

Cuadro 17. Cuenta de bacterias mesófilas aerobias ($\log_{10}$ ufc·g⁻¹) en muestras de Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, de dos queserías (A y B) y dos temporadas (lluvias y secas).

Quesería	Temporada	Muestra				
		1	2	3	4	5
A	Lluvias	8.15	9.42	9.38	7.7	9.15
	Secas	9.15	8.23	8.4	8.39	9.8
B	Lluvias	7.7	8.9	9.55	8.99	8.77
	Secas	11.54	7.23	8.45	7.66	7.31
Límite	NOM-243-SSA1-2010 ^(a)			5.3		
	Directiva europea 92/46/EEC			N. R.		

^(a) Helados y sorbetes

N.R. No reportado

Fuente: Elaboración propia

La elevada cuenta de bacterias mesófilas aerobias está relacionada con la carga inicial encontrada en leche ($6.8 \pm 0.8 \log_{10}$ ufc·mL⁻¹) que aumentó después de la fermentación de la pasta ($10.39 \pm 1.46 \log_{10}$ ufc·g⁻¹), y disminuyó después del tratamiento térmico y de la adición de sal ($8.69 \pm 1.01 \log_{10}$ ufc·g⁻¹). Como se mencionó antes, debido a que la cuenta total incluye a varios grupos de bacterias se requiere de la mejora de las prácticas de higiene durante la obtención de la leche para favorecer que las bacterias benéficas (principalmente las bacterias ácido lácticas) dominen sobre otras que pudieran estar presentes.

3.7.2. Bacterias coliformes totales

Las bacterias coliformes totales son otro grupo de microorganismos considerados como índice de calidad higiénica en los alimentos, son flora habitual del tracto digestivo de animales de sangre caliente donde la población es de 10^6 - 10^9 (Foryste, 2000). Por lo anterior, se asocian con contaminación fecal (proveniente del ganado durante la ordeña,

y de los trabajadores) y con poca higiene en la manipulación (Foryste, 2000; Chambers, 2002; Bintsis *et al.*, 2008; Kailasapathy, 2008; Pantoja *et al.*, 2011). Técnicamente, son organismos capaces de fermentar la lactosa a ácido y gas a 35°C por 48 h; no representan un grupo definido taxonómicamente ni a una familia, género, o especie. Sin embargo, describen a un grupo de bacilos Gram-negativos anaeróbicos facultativos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* (Bintsis *et al.*, 2008).

Estos microorganismos tienen la habilidad de crecer en leche cruda, no sobreviven a la pasteurización, y pueden o no crecer en queso dependiendo del pH y del contenido de sal presentes. El tiempo de generación de estos microorganismos disminuye con el aumento de la temperatura (8 h a 5 °C, 1.7 h a 15 °C, y 0.45 h a 30 °C) (Walstra *et al.*, 2006; Deibel y Deibel, 2008).

En el Quesillo, las 10 muestras de queso están por encima de lo establecido en la NOM-243-SSA1-2010 para quesos de suero, los datos de cada una de las muestras aparecen en el Cuadro 18. La elevada cuenta refleja la necesidad de mejorar las prácticas de higiene tanto de la materia prima y durante el proceso de elaboración. Es importante considerar que una cuenta alta de estos microorganismos tiene varias implicaciones, como son: indicar la presencia potencial de bacterias patógenas; originar el defecto conocido como “hinchazón temprana”; así como, generar sabores desagradables, a fermentado y pútridos (Fox *et al.*, 2000; Pintado *et al.*, 2015; Donnelly, 2007).

Cuadro 18. Cuenta de bacterias coliformes totales ($\log_{10}$ ufc·g⁻¹) en muestras de Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca procedente de dos queserías (A y B) y dos temporadas (lluvias y secas).

Quesería	Temporada	Muestra				
		1	2	3	4	5
A	Lluvias	7.31	5.24	4.5	3.7	4.35
	Secas	5.95	6.8	5.8	5.36	6.12
B	Lluvias	6.46	6.24	6.49	6.37	6.19
	Secas	6.11	3.48	5.95	6	7.04
Límite	NOM-243-SSA1-2010 ^(a)	<2				
	Directiva 92/46/EEC	N. R.				

^(a) Helados y sorbetes. Quesos de suero.

N.R. No reportado.

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

Un aspecto importante es que su crecimiento puede prevenirse por el uso de bacterias iniciadoras (BAL) que rápidamente transformen la lactosa a ácido láctico, con la disminución del pH en un corto tiempo a un nivel que las inhiba. Además, después de una acidificación suficiente, los quesos deben salarse, tan pronto como sea posible, y mantenerse a baja temperatura (Walstra *et al.*, 2006; Donnelly, 2007).

Es importante considerar que Asperger y Brand (1982) mencionan que para permitir el uso de las bacterias coliformes como organismos indicadores en queso se debe de tomar en cuenta: la composición de la asociación microbiana específica para cada tipo de queso; la forma de procesamiento; y, los parámetros del proceso de maduración.

3.7.3. Mohos y levaduras

En el Cuadro 19 se presentan las cargas de mohos y levaduras encontradas en Quesillo. Para la quesería A se tuvo una muestra, de las cinco evaluadas, por encima del

límite establecido por la NOM-243-SSA1- 2010 durante cada temporada. En la quesería B, se tuvieron dos muestras, de las cinco, por encima del límite en cada temporada. Este comportamiento no se percibe si se toma en cuenta el valor promedio obtenido del análisis de efecto del tratamiento térmico. Sin embargo, la presencia de estos microorganismos es abundante en quesos, Viljoen (2001) menciona que se han reportado cuentas que exceden 10^7 ufc·g⁻¹, mientras que las cuentas más frecuentemente encontradas van de 10^4 a 10^6 ufc·g⁻¹.

Cuadro 19. Cuenta de mohos y levaduras ($\log_{10}$ ufc·g⁻¹) en muestras de Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca procedente de dos queserías (A y B) y temporadas (lluvias y secas).

Quesería	Temporada	Muestra				
		1	2	3	4	5
A	Lluvias	<3.7	<3.7	<3.7	<3.7	4.35
	Secas	2.4	2.2	<2	<2	6.12
B	Lluvias	4.51	4.34	<3.7	<3.7	<3.7
	Secas	3	2	1.3	<2	<2
Límite	NOM-243-SSA1-2010 ^(a)			2.69		
	Directiva 92/46/EEC			N. R.		

^(a) Quesos frescos, madurados y quesos de suero.

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

Las fuentes de contaminación de mohos y levaduras en leche se relacionan con el polvo, con los utensilios de ordeña, y el alimento del ganado (Moatsou y Moschopoulou, 2015). Los mohos y las levaduras pueden estar presentes en el aire con niveles de $2.0 \cdot 10^2$ a $10.0 \cdot 10^2$ cfu·m³ (Robinson y Tamime, 2002). Las levaduras comúnmente encontradas en leche son *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus*, *K. marxianus* var. *lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida lacticondensi*, *C. famata*, *C.*

versatilis, *C. lusitaniae* y *Yarrowia lipolytica* (formalmente *Candida lipolytica*), mientras que los mohos pertenecen a los géneros *Rhizomucor*, *Rhizopus* y *Aspergillus* (Moatsou y Moschopoulou, 2015).

Para este grupo de microorganismos, la acidez no resulta un factor limitante para su crecimiento. Esto se debe a que los mohos y las levaduras crecen mucho mejor que las bacterias al pH del queso, incluso a valores de pH de 2 a 4. No compiten con las bacterias pues crecen más lento, a pesar de no ser nutricionalmente demandantes. Generalmente, las levaduras son anaerobias facultativas, mientras que los hongos son considerados aerobios obligados. Los mohos y las levaduras son sensibles a la pasteurización (Fox *et al.*, 2000; Cogan y Berestford, 2002). Las levaduras en el queso provienen principalmente del suero ácido, utilizan como fuente de carbono a la lactosa y al ácido láctico, muchas son sensibles a la sal, sobreviven a la pasteurización, causan defectos en el flavor (fermentado y afrutado) y en la textura (producción de gas) (Walstra *et al.*, 2006).

Los mohos y las levaduras, además de tener un impacto como indicadores de contaminación, son muy importantes pues ocupan un nicho ecológico, y en colectivo con las bacterias, contribuyen a la generación de los sabores y del bouquet característicos de ciertas variedades de queso y de otros productos lácteos (Farkye y Vedamuthu, 2002; Álvarez-Martín *et al.*, 2008). Ciertos mohos (v. g. *Geotrichum candidum*, *Penicillium camemberti*, y *P. roqueforti*) y levaduras (v. g. *Kluyveromyces marxianus* y *Debaryomyces hansenii*) suelen emplearse en productos lácteos para éste propósito (Fox *et al.*, 2000).

Los mohos se utilizan principalmente en la industria quesera en la elaboración de algunas variedades de quesos semiblandos. Su principal rol es mejorar el flavor y el aroma, así como modificar, ligeramente, el cuerpo y la textura de la cuajada (Tamime, 2002). Ciertas especies de levaduras son adicionadas a la leche de quesería, y su empleo, junto con bacterias ácido lácticas, resulta en una fermentación levadura-láctica. La combinación de la actividad de las bacterias ácido lácticas y las levaduras produce una fermentación ácido láctica/alcohólica en leche (v. g. Kefir and Koumiss). El alcohol etílico se produce principalmente y su nivel puede ser tan alto como $2 \text{ g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$; otros componentes del flavor formados son: el acetaldehído, el diacétilo y el ácido láctico (Tamime, 2002). Además, la lisis celular de las levaduras libera vitaminas y aminoácidos que estimulan el crecimiento de las bacterias, y promueven precursores de flavor (Farkye y Vedomuthu, 2002).

Un aspecto negativo es que algunos mohos y levaduras pueden crecer consumiendo ácido láctico, lo que resulta en un incremento del pH en la pasta del queso que puede favorecer el crecimiento de microorganismos deteriorantes, por ejemplo de coliformes (Fox *et al.*, 2000; Saris, 2015; Asperger y Brandl, 1982). Sin embargo, la interacción de las levaduras con otros microorganismos también involucra una actividad antagónica por medio del “factor killer”, la secreción de componentes antibacterianos y antifúngicos, y por ligarse a bacterias patógenas (Viljoen, 2001).

Concerniente a la inhibición o eliminación de microorganismos indeseables se ha indicado, más no finalmente probado, que *Debaryomyces hansenii* puede inhibir la germinación de *Clostridium butyricum* y *Clostridium tyrobutyricum*, posiblemente por el agotamiento del ácido láctico y acético en el queso. El “factor killer” se ha

demostrado en levaduras aisladas de salmuera de queso, y con un posible amplio espectro antimicrobiano que puede afectar principalmente a bacterias y mohos, incluyendo a bacterias iniciadoras (Jakobsena y Narvhus, 1996). Específicamente, Mufandaedza *et al.* (2006) estudiaron las propiedades antimicrobianas de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* C1 sola o en combinación con *Candida kefir* 23, aisladas de leche fermentada tradicional, y se encontró que inhibieron el crecimiento de *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*.

3.7.4. *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva

No se detectó la presencia de *Staphylococcus aureus* en ambas queserías en la temporada de lluvias (Cuadro 20). Durante la temporada de secas se presentó un aumento en la población de este microorganismo, ya que en la quesería A se tuvieron tres quesos con cuentas arriba de $5 \log_{10} \text{ ufc} \cdot \text{g}^{-1}$, mientras que en la quesería B se tuvieron dos muestras con cuentas arriba de $9 \log_{10} \text{ ufc} \cdot \text{g}^{-1}$. De acuerdo con estos resultados la población de este microorganismo en ambas queserías se encuentra por encima de lo establecido por la NOM-243-SSA1-2010, para productos lácteos, y de lo establecido por la Directiva 92/46/EEC para quesos de leche cruda.

Cuadro 20. Cuenta de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo ($\log_{10}$ ufc·g⁻¹) en Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca procedente de dos queserías (A y B) y temporadas (lluvias y secas).

Quesería	Temporada	Muestra				
		1	2	3	4	5
A	Lluvias	<2	<2	<2	<2	<2
	Secas	7.3	5.4	5	<2	<2
B	Lluvias	<2	<2	<2	<2	<2
	Secas	9	8.3	<2	<2	<2
Límite	NOM-243-SSA1-2010 ^(a)	2				
	Directiva 92/46/EEC	m=3 M= 4; n=5, c=2				

^(a) Quesos frescos y quesos de suero.

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

Debido a la cuenta de *Staphylococcus aureus* encontrado en el Quesillo podría considerarse de riesgo para la salud. Lo anterior, debido a que aproximadamente el 20 % de las cepas de *S. aureus* presentes en leche cruda producen enterotoxinas, mismas que son causantes de la enfermedad conocida como intoxicación estafilocócica (Fox *et al.*, 2000; Oliver *et al.* 2005). Generalmente, se supone que una población de 10^5 a 10^6 ufc·mL⁻¹ de la bacteria producirá una dosis de toxina suficiente para causar intoxicación (0.1-1.0 mg de toxina·kg⁻¹) (Foryste, 2000; Fox *et al.*, 2000; Mostert y Jooste, 2002).

La relación inexistente entre el consumo de Quesillo y la intoxicación alimentaria por *Staphylococcus aureus* puede explicarse por lo descrito por Lindqvist *et al.* (2002). Ellos realizaron la valoración del riesgo microbiológico ejemplificado por *Staphylococcus aureus* en quesos no madurados hechos con leche cruda. En este trabajo se determinó que una elevada proporción de los quesos podría contener niveles insatisfactorios de este microorganismo al momento de su consumo. Sin embargo, los

pocos casos reportados de intoxicación sugieren que el riesgo potencial se ha sobreestimado sobre el riesgo real. En estos productos, las condiciones ambientales restringen la producción de la toxina, más que el crecimiento del microorganismo. Además, la fase de crecimiento en la que se produce la toxina varía entre cepas, en algunas la producción inicia en la fase exponencial, y en otras en la fase estacionaria, cuando se alcanza una masa crítica de células.

Las enterotoxinas son difíciles de detectar mediante la prueba de termonucleasa, por lo que la presencia de la enzima coagulasa es un indicador aceptado de patogenia (*S. aureus*, *S. intermedius*, y *S. hyicus* la producen) (Foryste, 2000; Fox *et al.*, 2000; Farkye y Vedamuthu, 2002; Moatsou y Moschopoulou, 2015; Şenel y Gürsoy, 2015). No obstante, Lindquist *et al.* (2002) mencionan que no existe una relación simple disponible entre el número de bacterias y la concentración de enterotoxina producida, aun en cepas de coagulasa positiva.

A pesar de que en el Quesillo la población, el pH y la a_w están dentro del intervalo que permite la producción de enterotoxina, éste no se ha relacionado con intoxicaciones alimentarias. Lo anterior, puede deberse a que la severidad de los síntomas depende de varios factores como son: la susceptibilidad individual a la toxina, la cantidad ingerida de alimento contaminado, la cantidad ingerida de la toxina, y de la salud general del individuo. Además se menciona que algunas personas pueden no mostrar síntomas (Foryste, 2000; Farkye y Vedamuthu, 2002). Por otro lado, se ha encontrado, en pruebas realizadas con animales, que existe cierto grado de inmunidad después de una exposición repetida al mismo tipo de enterotoxina (Lindqvist *et al.*, 2002).

Aunado a lo anterior, Hunt *et al.* (2014) estudiaron los factores que afectan la producción de la toxina C_{bovina} producida por *Staphylococcus aureus* en leche. Esta investigación determinó que la producción de enterotoxina fue menor en leche pasteurizada y cruda en comparación a la que se obtuvo en medio MRS estéril. Lo que pudo ser resultado de la competencia bacteriana que inhibe, en gran medida, tanto al crecimiento del microorganismo como a la producción de enterotoxina, principalmente en leche cruda.

En el Quesillo, el aumento de los niveles de este microorganismo puede deberse a la presencia de mastitis. Lo anterior debido a que *Staphylococcus aureus*, junto con otros patógenos (*v. g.*, *E. coli*, *Listeria*, etc.), es la causa más común de mastitis en vacas lecheras (Fox *et al.*, 2000; Cogan y Berestford, 2002; Oliver *et al.* 2005), por lo que puede estar presente en leche cruda y crecer hasta altos los niveles durante la manufactura y en la maduración de los quesos (Cogan y Berestford, 2002). Empero, Hunt *et al.* (2014) mencionan que existe variación en la producción de la toxina debida a la relación entre el medio y de la cepa estudiada, ya que algunas cepas produjeron 500 veces más toxina en medios de laboratorio que en leche. A su vez, los resultados revelaron que el riesgo de la presencia de enterotoxina estafilocócica en leche es bajo. En este sentido, se sugiere que aunque el pH y la temperatura sean óptimos para la producción de toxina durante la elaboración de queso, la realidad es que la no producción de enterotoxina estafilocócica en leche cruda indica un bajo riesgo de producción de la misma en el queso.

El uso de leche contaminada para la elaboración de Quesillo puede ocurrir debido a que la mastitis al inicio de la enfermedad (mastitis subclínica) no se generan

cambios fisicoquímicos o anormalidades evidentes en la leche. La formación de grumos compuestos por una mezcla de leche, células somáticas, y bacterias aparece en la fase de mastitis clínica (Fox *et al.*, 2000).

Otra fuente posible de contaminación es por contaminación del ambiente de la quesería y por contacto con superficies vivas (manos) y no vivas (superficies inertes). Lo anterior debido a que los humanos y los animales de sangre caliente son los principales reservorios. Los principales hábitats de estafilococos incluyen las membranas nasales y garganta, la piel, el tracto gastrointestinal y genital, y el cabello. Además está presente en el aire, el polvo, las aguas residuales, y el equipo de procesamiento (Foryste, 2000; Fox *et al.*, 2000; Robinson y Tamime, 2002)

De Buyser *et al.* (2001) y Rosengren *et al.* (2010) mencionan que la enfermedad producida por *S. aureus* se relaciona principalmente con el consumo de quesos de leche cruda, más que con la misma leche. Empero, se produce una cantidad importante de estos quesos (particularmente en Europa), cuyo consumo no se ha asociado de manera importante con brotes alimentarios (Cogan y Berestford, 2002).

En México, en el periodo comprendido de 1980 a 1989, se determinó que *Staphylococcus aureus* provocó 26 brotes confirmados de toxiinfecciones alimentarias, con 792 casos. Asimismo, 11 casos se relacionaron con el consumo de quesos y 4 con el de leche (Parrilla-Cerrillo *et al.*, 1993). Del año 2003 al 2008 se reportaron cifras por arriba de 35,000 casos de intoxicaciones alimentarias, sin embargo no se especificó el agente etiológico específico ni el vehículo causante de los brotes de enfermedad (Hernández- Cortez *et al.*, 2011). Una incidencia baja si se toma en cuenta el periodo

evaluado, el nivel de población y el número de brotes relacionados con este microorganismo.

Con la finalidad de disminuir el riesgo de contaminación con *Staphylococcus aureus* en quesos de leche cruda se recomienda lo siguiente: i) la leche cruda deberá obtenerse bajo condiciones de higiene que permitan obtener una cuenta total $<20,000\text{cfu/mL}$ en la leche cruda (i.e., antes de la adición del cultivo iniciador); ii) mantener la cadena de frío durante todo el ciclo de producción de queso; iii) cuidar la higiene de los trabajadores, de las superficies, y en la manipulación durante la maduración, especialmente en quesos donde el pH se incrementa; y, iv) favorecer la fermentación de los quesos mediante el uso de cultivos lácticos iniciadores, esto para acelerar la disminución del pH mediante la producción de ácido, y para generar componentes antagónicos contra las cepas patógenas (Foryste, 2000; Cogan y Berestford, 2002; Farkye y Vedamuthu, 2002; Walstra *et al.*, 2006).

3.7.5. *Escherichia coli* (presuntiva)

La cuenta de *E. coli* en el Quesillo de ambas queserías en la dos temporadas resultó superior al límite establecido por la NOM-243-SSA1-2010 (Cuadro 21). El queso proveniente de la quesería A está dentro del límite de la Directiva 92/46/EEC durante la temporada de lluvias, sin embargo sale de norma durante la temporada de secas, pues se tienen tres muestras por arriba de $5 \log_{10} \text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$, cuando el criterio microbiológico permite la presencia de 2 muestras con cargas entre 4 y $5 \log_{10} \text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$. En la quesería A ocurre lo contrario, ya que se tienen tres muestras por arriba del límite en la temporada de lluvias, contra una sola muestra durante la temporada de secas.

Cuadro 21. Cuenta de *E. coli* (presuntiva) ($\log_{10}$ NMP·g⁻¹ en Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca, procedente de dos queserías (A y B) y temporadas (lluvias y secas).

Quesería	Temporada	Muestra				
		1	2	3	4	5
A	Lluvias	<2.48	2.56	3.64	3.97	3.97
	Secas	3.88	3.97	5.04	5.04	>5.04
B	Lluvias	3.63	4.38	>5.04	>5.04	>5.04
	Secas	<3.48	4.36	4.43	4.63	5.38
Límite	NOM-243-SSA1-2010 ^(a)	2				
	Directiva 92/46/EEC	m=4 M= 5 n=5, c=2				

^(a) Quesos frescos.

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

La relevancia de *Escherichia coli* en quesos se debe a que se le reconoce como el indicador más importante de contaminación fecal (Foryste, 2000; Fox *et al.*, 2000; Moatsou y Moschopoulou, 2015). No obstante, estudios realizados en muestras de leche y queso se encontró que las heces de ganado no son una fuente importante de contaminación con enterococos, lactobacilos o coliformes. La presencia de *E. coli* se relacionó con un origen ambiental más que con un origen estrictamente fecal (Kagkli *et al.*, 2007). En contraste, las heces son la principal fuente de bifidobacterias y por esta razón *Bifidobacterium pseudolongum* se ha propuesto como un indicador fecal más relacionado con la calidad higiénica de la leche cruda y de los quesos (Delcenserie *et al.* 2011).

A pesar de que se encontraron cuentas por arriba de 5 $\log_{10}$ ufc·g⁻¹ no se ha asociado al consumo de Quesillo con toxiinfecciones alimentarias. Esto puede deberse a que la mayoría de los serotipos de *E. coli* no son patógenos y son parte de la microflora normal del intestino (con un nivel de 10⁶ ufc·g⁻¹ de heces). La cepas no patogénicas de

E. coli colonizan el tracto intestinal de los niños con pocas horas de nacidos. Su presencia suprime el crecimiento de bacterias patógenas y es importante por la habilidad de la bacteria de sintetizar vitamina B. *E. coli* usualmente es inocua cuando se confina al lumen intestinal. Sin embargo, la cepas no patogénicas pueden causar infección en humanos inmunosuprimidos, o cuando las barreras gastrointestinales son alteradas. Además, la dosis infectiva de *E. coli* es de 10^6 - $>10^7$ ufc·g⁻¹, mientras que para las cepas *E. coli* O157:H7 va de 10 a 100 ufc·g⁻¹ (Foryste, 2000).

La enfermedad se asocia al consumo de leche cruda, así como de queso elaborado con leche cruda y pasteurizada. En productos pasteurizados su presencia se debe a una pasteurización incorrecta y/o por contaminación postproceso. Las investigaciones sugieren que existe una baja incidencia ligada a su consumo (Quinto y Cepeda, 1997; Fox *et al.*, 2000; D'Amico *et al.*, 2008; Brooks *et al.*, 2012; Montel *et al.*, 2014).

Se ha estudiado la facultad de *E. coli* y *Staphylococcus aureus* para crecer en leche de humana tanto pasteurizada como cruda, y se encontró que la pasteurización favoreció su crecimiento, lo que puede explicarse por la reducción de la concentración de la actividad de componentes inmunológicos con propiedades bactericidas y bacteriostáticas, y por la desnaturalización de lipasas de la leche que inducen a una baja producción de ácidos grasos con propiedades antagónicas (Montel *et al.*, 2014).

Una manera de disminuir el riesgo de contaminación asociada a este microorganismo incluye la implementación de buenas prácticas, con hincapié en la calidad de agua (Donnelly, 2004) y la producción rápida de ácido. *E. coli* normalmente

no tolera valores bajos de pH, a excepción de *E. coli* 0157:H7 que crece a pH de 4.5 ajustado con HCl, pero se inactiva en presencia de ácido láctico (Fox *et al.*, 2000).

En México, en el periodo comprendido entre 1980 y 1989 se reportaron 3 brotes alimentarios relacionados con *Escherichia coli*, con un total de 99 personas infectadas, sin defunciones. Los alimentos relacionados con estos brotes fueron carne, leche y agua. Ningún caso se asoció al consumo de quesos (Parrilla-Cerrillo *et al.*, 1993). Según lo reportan Fritser *et al.* (2002) entre los años de 1995 y 2000, la distribución de las cepas de *E. coli* implicadas en brotes fueron: enterotoxigénica 65 %, enteroinvasiva 0.8 %, enteropatógena 0.7 %, enterohemorrágica (no identificada como 0157:H7) 0.08 %, y no patógena 33 %.

3.7.6. *Salmonella* spp.

En el Quesillo, la presencia de *Salmonella* spp. en el periodo de lluvias (en 6 muestras positivas de 10, durante el periodo de lluvias), y de *S. enterica* Paratyphi A en las secas (2 muestras de 10) indica la necesidad de mejorar las prácticas de higiene durante la obtención de la leche y su elaboración. Lo anterior con la finalidad de reducir el riesgo de brotes de enfermedad asociados a su consumo. En este sentido, tanto la NOM-243-SSA1-2010 como la Directiva europea 92/46/EEC establecen que este microorganismo no debe detectarse en quesos.

A la fecha no existe información que vincule al consumo del Quesillo con brotes de enfermedad, ya que la relación estrecha existente entre las queserías y los consumidores permite conocer de primera mano dicha relación.

La nula incidencia de casos de salmonelosis asociados al consumo de Quesillo, a pesar de haberse detectado *Salmonella* spp. y *S. Paratyphi* A, se fundamenta por lo encontrado por Gutiérrez-Cogco *et al.* (2000). Estos investigadores detectaron que, en el periodo comprendido entre 1972 y 1999 en México, no existió una coincidencia entre los serotipos de las cepas de *Salmonella* estudiadas que provinieron de fuentes no humanas (i. e. alimentos, agua y muestras ambientales) y los detectados en fuentes humanas. Esto indicaría que los serotipos detectados en las fuentes no humanas aparentemente se mantuvieron sin causar brotes de enfermedad en seres humanos.

Otro factor que puede tomarse en cuenta es la presencia de infecciones asintomáticas por la presencia de cargas por debajo de la dosis infectiva requerida para originar la enfermedad. Esto fue explicado por Teunis *et al.* (2010) mediante el modelado de datos obtenidos de brotes alimentarios originados por *Salmonella*. Dicho modelo predice que el riesgo de enfermarse disminuye a bajas dosis de este microorganismo en el alimento. Lo que provee una explicación ecológica entre la brecha de la carga infecciosa y la incidencia de la enfermedad. Generalmente se necesitan dosis altas del patógeno (hasta de 10^6) para generar una respuesta en el organismo. Sin embargo, la variabilidad de la relación dosis-respuesta refleja la diversidad biológica en la susceptibilidad del hospedero (v. g. edad y estado de salud), en la infectividad y la patogenicidad del microorganismo (serotipo presente), así como del comportamiento de *Salmonella* en el alimento (Foryste, 2000; Teunis *et al.*, 2010).

En el Quesillo los factores de a_w , el pH y la temperatura no son suficientes para impedir el crecimiento de este microorganismo. Sin embargo, éste pudo haberse limitado hasta quedar por debajo de la dosis infectiva para causar la enfermedad debido a que en

los quesos existen otros factores que determinan su crecimiento. Algunos de los cuales son: la composición del queso y la presencia de sistemas enzimáticos que se preservan de la leche cruda, mismos que pueden disminuir su crecimiento (v. g. lactoferrina, lisozima y sistema lactoperoxidasa) o favorecerlo (v. g. la caseína le brinda un efecto protector contra la disminución de pH en yogur); la adición o la metabolización de sustancias inhibidoras durante su elaboración, v. g. el NaCl o la presencia de ácidos orgánicos, como el láctico; el tratamiento térmico de la pasta, que aunque no elimina a la población inicial de este microorganismo, a diferencia de lo reportado para queso Mozzarella, si puede disminuirla; así como, la presencia de organismos competidores (v.g. bacterias ácido lácticas capaces de liberar sustancias inhibidoras, como las bacteriocinas) (Rubin, 1985; El-Gazzar y Marth, 1992; Donnelly, 2004; Szala *et al.*, 2012; Fraga-Cotelo *et al.*, 2013; Ibraheem *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2015).

A pesar que *S. enterica* Paratyphi A, aislada en el Quesillo, se relaciona con la ocurrencia de salmonelosis en humanos (Foryste, 2000), en México no se ha reconocido como un serotipo responsable de brotes de enfermedad, esto en el periodo comprendido de 1972 hasta 1999 (Parrilla-Cerrillo, 1993; Gutiérrez-Cogco *et al.*, 2000). Por otro lado, la salmonelosis y la paratifoidea han ocupado lugares bajos dentro de todas las causas de enfermedad, en el 2003 tuvieron el vigésimo cuarto lugar (con 103, 815 casos) y en el 2008 ocuparon el décimo noveno lugar (con 122, 422 casos). Empero, en el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE) se reporta una tendencia ascendente a partir del año 2000 al 2011, con la notificación de 107,289 y 170,400 casos, respectivamente (Hernández-Cortez, 2011; Secretaría de Salud, 2012).

Cabe señalar que en México en el periodo comprendido de 1980 a 1989 se reportó a la *Salmonella enterica* como el segundo agente causal de brotes de toxiinfecciones (18 brotes con 596 casos), de los cuales 2 casos se relacionaron con leche y otros 6 con el consumo de queso (Parrilla-Cerrillo, 1993). No obstante, estos casos resultan pocos si se toma en cuenta el volumen de consumo de productos lácteos, la población total del país y el periodo de registro analizado.

Pese a lo anterior, resulta importante tomar medidas para reducir la presencia de este microorganismo en el Quesillo debido al riesgo ligado al consumo de alimentos contaminados. Algunas medidas para combatir a este patógeno durante el proceso de elaboración incluyen: la vigilancia de la calidad de la leche cruda, una estricta sanitización, el uso de cultivos iniciadores activos, y la adopción de la cadena de frío. La refrigeración de los alimentos a temperaturas por debajo de 5 °C es importante debido a que *Salmonella* puede crecer a temperaturas a partir de 6 °C (El-Gazzar y Marth, 1992; Farkye y Vedamuthu, 2002).

Otro aspecto importante es la prevención de la contaminación a través del personal, lo que resulta efectivo cuando se realiza capacitación sobre higiene y se trabaja de manera coordinada (Robinson y Tamine, 2002). El uso de sanitizantes como ácidos orgánicos (v. g. ácido láctico al 2 %), el cloro y los cuaternarios de amonio es efectivo para la eliminación de este microorganismo (El-Gazzar y Marth, 1992; Mostert y Buys, 2008).

Asimismo, la implementación de un sistema de calidad enfocado a la reducción del riesgo de contaminación por esta bacteria deberá considerar: 1) minimizar la

contaminación cruzada de productos finales, y mantener los utensilios y otros equipos en condiciones sanitarias; 2) implementar programas para el control efectivo de roedores y de insectos; 3) minimizar el tráfico no esencial en áreas de procesamiento de alimentos; 4) adiestrar a los empleados para que sigan prácticas de higiene personal y de la planta (El-Gazzar y Marth, 1992).

Adicionalmente, el consumidor debe ser consciente de prácticas básicas de sanitización y salud, especialmente el lavado de manos, y del uso de equipo y tablas para picar limpias; del uso de métodos apropiados en el almacenamiento, la preparación, y el servido de los alimentos; y debe estar informado de los contaminantes microbianos potenciales en los alimentos crudos (El-Gazzar y Marth, 1992).

La pasteurización no se contempla como la principal vía para la reducción del riesgo de contaminación en el Quesillo pues la recurrencia de *Salmonella* como agente causal de brotes alimentarios no se limita al uso y consumo de leche cruda. De hecho, en el periodo comprendido entre los años de 1900 al 2006, los brotes ligados a leche cruda certificada fueron menores que los ligados a leche pasteurizada, y la incidencia en queso mostró el mismo comportamiento (Ryser, 2012).

En el Anexo 2 se presenta un análisis de riesgo general de la presencia de cada uno de los microorganismos en el Quesillo y se proponen algunas alternativas que ayudarían a reducir el riesgo de contaminación. Además se propone la creación de algunos procedimientos operativos estandarizados (POE), así como la elaboración de bitácoras asociadas a cada actividad.

3.8. Implicaciones socio-técnicas de la inocuidad

La calidad de los alimentos, como un concepto multidimensional (Muchnik, 2006), no puede ignorar la importancia de la inocuidad. El consumidor se ha hecho consciente de la relevancia de la inocuidad dentro de la decisión de compra de los alimentos. En los Estados Unidos la inocuidad en el momento de compra resultó ser un factor calificado como muy importante para el grupo de consumidores integrado por mujeres, personas mayores, para aquellos con mayor formación académica, y para las familias con miembros en situación de riesgo (ancianos, niños y mujeres embarazadas) (Lin, 1995).

En México, los alimentos tienen un papel importante como fuente de transmisión de enfermedades. El panorama de morbilidad predominante es de padecimientos transmisibles, las infecciones respiratorias agudas permanecen en la primera causa de atención médica, seguido de las enfermedades diarreicas. Además, en la lista de las 20 principales causas de morbilidad en México, se encuentran específicamente las amebiasis y las salmonelosis. Desafortunadamente la tendencia en la incidencia de enfermedades diarreicas no ha cambiado mucho desde el año 2000, cuando se registraron 5,184,776 casos; en el 2010 se registraron 4,923,459 casos de infecciones intestinales y los grupos con mayor incidencia fueron: menores de un año, el grupo de 1 a 4 años y el grupo de 5 a 9 años. Esto conlleva un gran impacto en la salud infantil, ya que en el 2009, las enfermedades infecciosas intestinales fueron la quinta causa de mortalidad en niños de 1 a 4 años (Jiménez-Edeza y Chaidez-Quiroz, 2013).

El Quesillo es un producto de una gran aceptación por parte de los consumidores quienes lo demuestran, pues están dispuestos a pagar hasta 120 pesos por kilogramo,

además de que algunas queserías de Reyes, Etla envían su producto a destinos fuera del estado, como al Distrito Federal y a Monterrey, Nuevo León. Además es apreciado por los queseros que lo elaboran y representa para ellos parte de la identidad de su comunidad y de Oaxaca, además a decir de ellos “es un arte que no cualquier persona puede dominar”. Desde el punto de vista económico representar una fuente de ingresos y de empleo para todos aquéllos que lo elaboran y para los que están ligados a su producción (lecherías y expendedores).

Tecnológicamente, el Quesillo es producto de una fermentación prolongada de la pasta (de 6 a 36 horas) con la que se obtiene un pH alrededor 5.0 y una a_w de aproximadamente 0.992 en la cuajada, así como de 5.3 y 0.977 en queso, respectivamente. Para su proceso de elaboración la pasta fermentada debe someterse a tratamiento térmico con agua hirviendo (alrededor de 90 °C) para lograr la formación de la hebra. En dicho tratamiento la cuajada fermentada alcanza una temperatura de 50 °C por aproximadamente 3 minutos, en promedio. Debido a estas condiciones se esperaría que el Quesillo presentara bajos conteos de microorganismos así como la ausencia de bacterias sensibles a la acidez y a la temperatura.

No obstante, se detectó la presencia de cargas elevadas de organismos indicadores (coliformes totales y fecales) así como la presencia de patógenos (*Staphylococcus aureus* y *Salmonella* spp.). Estos resultados revelan la necesidad de generar medidas tendientes a la obtención de un producto de bajo riesgo de contaminación, con una calidad microbiológica dentro de límites razonables. Esto abre el debate sobre acerca de cuáles son las alternativas tecnológicas viables que las queserías podrían desarrollar para mejorar de la calidad higiénica del queso. Algunas propuestas incluyen el aumentar la

flora benéfica (bacterias acidolácticas) para acelerar la velocidad de fermentación (ya sea por la utilización de un cultivo comercial o de un serofermento con flora nativa), así como la implementación de buenas prácticas de higiene durante todos los eslabones de la cadena agroindustrial leche-Quesillo.

Desde el punto de vista normativo la carga de microorganismos encontrados en el Quesillo se encuentran por arriba del límite establecido por la NOM-243-SSA1-2010; sin embargo, dicha norma está hecha para productos de leche pasteurizada, sin considerar la diversidad y la complejidad dentro de las formas tradicionales de elaboración de alimentos. Esto último debido que la obligatoriedad de la pasteurización de la leche antes de su procesamiento tiene implicaciones tecnológicas, económicas y culturales.

Desde el punto de vista tecnológico, la exigencia de la pasteurización ignora la realidad del Quesillo, y de otros quesos elaborados con leche cruda que requieren de la flora láctica nativa durante su manufactura. En el quesillo, la acidez desarrollada durante la fermentación, por las bacterias ácido lácticas, es necesaria para conseguir las propiedades termoplásticas durante el amasado. Un tratamiento térmico severo en leche implica la eliminación de dicha flora, lo que a su vez encaminaría a la utilización de un cultivo comercial seleccionado, o bien, de un ácido orgánico para llegar a la acidez adecuada. Este cambio en el proceso tecnológico conduciría a la pérdida de propiedades fisicoquímicas y sensoriales del Quesillo, y más aun de la cultura que esto conlleva.

Morales *et al.* (2012) encontraron que existe efecto de la pasteurización de la leche y del método de acidificación sobre la composición química y la microestructura de un

queso mexicano de pasta filata, lo que repercutió principalmente en el arreglo de las hebras de caseína y en el contenido de calcio. Grappin y Beuvier (1997) mencionan que cuando se hace un queso de leche cruda, la introducción de una gran diversidad de microorganismos, variables y desconocidos, genera niveles altos y más variables de componentes del flavor, haciéndolos menos uniformes y atípicos para un panel entrenado que degusta quesos de leche pasteurizada.

A la par, la adopción de la pasteurización significa un aumento en el costo de producción derivado del uso de energía para realizar el tratamiento térmico de calentamiento y enfriamiento de la leche, así como por el empleo de equipos para llevar a cabo este proceso; además de la necesidad de capacitación para la apropiación del método por los queseros. Licitra (2010) menciona que muy pocos fabricantes de queso de leche cruda (pequeñas queserías de un solo hombre) podrían permitirse la compra de equipos de pasteurización, incluso si desean adquirirlo. Además, la amortización de dichos costos de inversión requeriría la expansión de volumen, transformándolos efectivamente en productores industriales. Esto en México presenta el reto adicional, por ser un país con un déficit en la producción lechera hasta de un 40 % de la demanda nacional.

Además, no se debe ignorar que la Food and Drug Administration (FDA) introdujo el concepto de "equivalencia de la pasteurización", para considerar otros factores que podrían hacer que el queso sea inocuo. Esto debido a una serie de factores que funcionan como mecanismos de barrera e influyen en la actividad microbiana durante la elaboración de los quesos de leche cruda y su añejamiento (Licitra, 2010).

Donnelly (2001; 2005) resalta que los quesos madurados elaborados con leche cruda poseen un registro sobresaliente de inocuidad alimentaria que se evidencia por su asociación poco frecuente con brotes de enfermedades transmitidas por alimentos. Con base en su revisión concluyó que factores diferentes al empleo de leche cruda contribuyen a la presencia de bacterias patógenas en la mayoría de los brotes de afecciones relacionadas con el consumo de queso. También, indica que los quesos madurados, hechos de leche cruda, son microbiológicamente seguros cuando son elaborados empleando leche obtenida con buenas prácticas y el sistema HACCP. Asimismo, esta investigadora no encontró datos convincentes que indiquen que la pasteurización obligatoria asegura obtener un producto inocuo, especialmente porque la contaminación post-pasteurización de quesos madurados ha sido responsable de muchos de los casos documentados.

Lo anterior sustenta la premisa de que el implementar buenas prácticas de higiene resulta un factor clave para lograr la inocuidad del producto, más que de proponer el uso de la pasteurización. Sin embargo, la adopción de dichas prácticas requiere de una verdadera vinculación entre la producción primaria y las queserías, entendiendo que la inocuidad del producto es una responsabilidad compartida entre proveedores, transformadores, distribuidores y el consumidor final. Lo que también requiere de la participación de los organismos de apoyo (soporte) del sistema agroindustrial, entre los que destacan los organismos de salud y de investigación.

La adopción de buenas prácticas de higiene es un proceso complejo, pues se enfoca principalmente al cambio de hábitos, lo que sólo es posible cuando el actor reconoce la necesidad y la relevancia de esto. Por más sencillo que pareciera, se requiere de un

cambio de paradigma en el que se deje de ver al Quesillo como un producto que genera ganancia hasta hacerse consciente de que su fin es nutrir al ser humano, sin causar un daño a la salud.

Además, se requiere de una valoración real del riesgo para la salud que representan los diferentes grupos de microorganismos que pudieran estar presentes en el Quesillo, con la finalidad de establecer límites alcanzables sin que se ponga el riesgo la salud del consumidor. En la Unión Europea se han establecido límites específicos para productos elaborados con leche cruda menos exigentes que los estipulados por la NOM-243-SSA1-2010.

Esto requiere, adicionalmente, que en México, los organismos encargados de generar la normatividad retomen un enfoque preventivo más que el correctivo, elaborando programas acordes a la realidad de las pequeñas queserías que conforman a la agroindustria quesera informal. Lo anterior tomando en cuenta la importancia de este sector desde un punto de vista económico, pues es el responsable de procesar más de la mitad de la leche producida en México; y más aún, como reservorio cultural, ya que prácticamente elabora la totalidad de los quesos genuinos artesanales del país.

4. CONCLUSIONES

La calidad composicional del Quesillo se encuentra dentro de los límites establecidos por la NMX-F-733-COFOCALEC-2012, y resulta mejor que la encontrada para algunas marcas comerciales declaradas como genuinas, y más aún si se le compara con las de imitación.

Por el proceso de fermentación, que genera condiciones ácidas y una descalcificación pronunciada de las micelas caseínicas modificadas, la masa resulta muy vulnerable al amasado en caliente, por lo que temperaturas en pasta superiores a 55 °C por un minuto resultan lesivas para la integridad de las correas y del buen hilado del queso.

El Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca no resulta pasteurizado según los datos de microflora específica sobreviviente. Sin embargo, existe cierto efecto del tratamiento térmico en la disminución de la población de bacterias mesófilas aerobias, coliformes, y mohos y levaduras.

Los microorganismos más sensibles al tratamiento térmico y el salado de la pasta fueron las bacterias coliformes (reducción de $3.05 \log_{10} \text{ ufc} \cdot \text{g}^{-1}$), seguido de los mohos y las levaduras (reducción de $2.61 \log_{10} \text{ ufc} \cdot \text{g}^{-1}$) y por último las bacterias mesófilas aerobias (reducción de $1.7 \log_{10} \text{ ufc} \cdot \text{g}^{-1}$).

Staphylococcus aureus no fue sensible a las condiciones de temperatura y tiempo de sostenimiento alcanzadas por la masa quesera.

El aumento aparente en la población de *E. coli* refleja una posible recontaminación debida al manejo durante la formación del Quesillo.

La *Salmonella* spp. se eliminó sólo en algunas muestras de Quesillo, por lo que pareciera que existen otros factores además del tratamiento térmico que influyen en su presencia.

La combinación de los procesos bioquímicos ocurridos durante la fermentación de la masa quesera (aumento de la acidez), el pH alcanzado (~5.4), y el tratamiento térmico durante el amasado (< 54 °C por 7 minutos), que se da al Quesillo resultan insuficientes para alcanzar los límites de carga microbiana establecidos por la NOM-243-SSA1-2010, para el Quesillo.

La NOM243-SSA1-2010 no establece límites razonables y alcanzables para quesos elaborados de leche cruda, además no toma en cuenta, ni respeta el “saber hacer”, la diversidad y la complejidad dentro de las formas tradicionales de elaboración de alimentos.

La no asociación del consumo de Quesillo con brotes de enfermedad, a pesar de la detección de patógenos, puede deberse a que los mecanismos de barrera en el microambiente queso (que incluyen por ejemplo pH bajo, presencia de ácidos orgánicos, adición de sal, sistemas enzimáticos de la leche, y microorganismos competidores, entre

otros) no permiten alcanzar las dosis infectivas de población y de toxinas necesarias para causar brotes de enfermedad.

La pasteurización de la leche constituye un camino para la pérdida de la tipicidad del Quesillo, pues es un producto que requiere de la acidificación de la pasta por vía fermentativa realizada por la flora láctica nativa de la leche. Además, el tratamiento térmico *per se* no garantiza la inocuidad de este producto, ya que una manipulación carente de buenas prácticas de higiene favorece su recontaminación.

Recomendaciones

El trabajo conjunto de los organismos de investigación y de los queseros para es imprescindible para disminuir el riesgo de contaminación en este producto.

Resulta pertinente la innovación tecnológica, sin llegar al empleo de la pasteurización, con la finalidad de mejorar la calidad sanitaria del producto; en este aspecto, una revisión y una aplicación de las fermentaciones lácticas resulta pertinente. Por ello, pueden buscarse tecnologías apropiadas como el empleo de leche de alta calidad, las buenas prácticas higiénicas durante la elaboración y el manejo del producto, así como el manejo de las fermentaciones lácticas para disminución el tiempo de hechura.

No obstante, se requiere la implementación de un Sistema de reducción de riesgos de contaminación acorde a las queserías artesanales de la zona. Sin embargo, el mayor reto consistirá en una verdadera adopción de las prácticas de higiene que constituyen la

vía más adecuada para lograr la inocuidad de este producto tradicional sin la pérdida de sus rasgos más importantes de tipicidad, como es el empleo de leche cruda.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez-Martín P., Flórez A. B., Hernández-Barranco A. and Mayo B. (2008). Interaction between dairy yeasts and lactic acid bacteria strains during milk fermentation. *Food Control* 19:62–70.
- Angelidis A. S., Chronis E. N., Papageorgiou D. K., Kazakis I. I., Arsenoglou K. C. and Stathopoulos G. A. (2006). Non-lactic acid, contaminating microbial flora in ready-to-eat foods: A potential food-quality index. *Food Microbiology* (23): 95–100.
- Anonymous. (2009). Plate Count Agar/Standard Methods Agar (Tryptone Glucose Yeast Agar). In: Zimbro M. J., Power D. A., Miller S. M., Wilson G. E. and Johnson J. A (eds). *Manual of microbiological culture media*. Second Edition. Becton, Dickinson and Company. USA. pp: 441-442.
- Asperger H. and Brandl E. (1982). The significance of coliforms as indicator organisms in various types of cheese. *Antonie van Leeuwenhoek* 48: 635-639.
- Berestford T. (2007). What factors affect microbial growth in cheese? In: McSweeney P.H.L. (ed). *Cheese problems solved*. CRC Press. USA. pp:119-123.
- Bintsis T., Angelidis A. S. and Psoni L. (2008). Modern laboratory practices – Analysis of dairy products. Britz T. J. and Robinson R. K. (eds.). *Advanced dairy science and technology*. Blackwell Publishing Ltd, USA. pp. 183-262.
- Brooks J. C., Martinez B., Stratton J., Bianchini A., Krokstrom R., and Hutkins R., (2012). Survey of raw milk cheeses for microbiological quality and prevalence of foodborne pathogens. *Food Microbiology* 31: 154–158.
- Cardozo G. M. B. Q., Barbieri M. K., Moreno I., Van Dender A. G. F., Trento F. K. H. S. and Kuaye A. Y. (2009). *Musca domestica* L. como vetor de microrganismos patogênicos para queijo Minas Frescal Ultrafiltrado. *Braz. J. Food Technol.* 12 (2): 85-91.
- Caro I., Mateo J., Sandoval M. H., Soto S., García-Armesto M. R. and Castro J. M. (2012). Characterization of Oaxaca raw milk cheese microbiota with particular interest in *Lactobacillus* strains. *Journal of Dairy Science* 96: 3461–3470.
- Cervantes E., F., y A. Villegas G. 2011. La genuinidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales mexicanos. *Estudios sociales* 19(38): 145-164.

- Chambers J.V. (2002). The microbiology of raw milk. pp. 39–85. *In*: Robinson R.K. (ed.). Dairy Microbiology Handbook, 3rd edition. John Wiley and Sons Inc, Ames, Iowa, USA.
- Chandan R. C. (2008). Dairy processing & quality assurance: An Overview.. *In*: Ramesh C. (ed.). Dairy processing and quality assurance. Editorial Wiley-Blackwell. pp:1-40.
- Cogan T. M. y Berestford T. P. (2002). Microbiology of hard cheese. *In*:. Robinson R.K [ed.]. Dairy Microbiology Handbook, 3rd edition. John Wiley and Sons Inc, Ames, Iowa, USA. pp: 515-560.
- Condron R., Desmarchelier P., Dyson R., Eddy D., Hammond L., Kirk M., MacBean R., O'Regan J., Goulburn M., Rice S., Robertson J., Willman N. and Oakley L. (2009). Microbiological risk assessment of raw milk cheeses. Food Standards Australia-New Zealand. Australia-New Zealand. 296 p.
- Consejo para el Fomento de la Calidad de la Leche y sus Derivados. (2012). NMX-F-733-COFOCALEC-2012. Sistema producto leche-Alimentos- Lácteos –Queso Oaxaca- denominación, especificaciones y métodos de prueba.
- Cunniff P (ed.). (1995). Official methods of analysis of Association of official analytical chemists international (AOAC). Association of Analytical Chemist. Washington, D.C.
- D'Amico D. J., Groves E, and Donnelly C. W. (2008). Low Incidence of foodborne pathogens of concern in raw milk utilized for farmstead cheese production. *Journal of Food Protection* 71(8): 1580-1589.
- de Buyser M.L., Dufour B., Maire M. and Lafarge V. (2001). Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialized countries. *International Journal of Food Microbiology* 67: 1–17.
- Deibel C. T. and Deibel R. H. (2008). Laboratory analysis of milk and dairy products. *In*: Ramesh C. (ed.). Dairy processing and quality assurance. Editorial Wiley-Blackwell. pp: 529-574.
- Delahunty C. M. and Drake M. A. (2004). Sensory character of cheese and its evaluation. *In*: Fox P. F., McSweeney P. L. H. and Cogan T.M. Cheese chemistry, physics and microbiology. General Aspects. Vol. 1. Third edition. Elsevier Academic Press. USA. pp: 455-487.
- Delcenserie, V., Gavini F., China B. and Daube G. (2011). *Bifidobacterium pseudolongum* are efficient indicators of animal fecal contamination in raw milk cheese industry. *BMC Microbiol.* 11: Art 178. Available at: <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2180-11-178.pdf>.
- Dillon V. M. (2014). Preservative effects during storage. *In*: Batt C. A. and Tortorello M. L (ed.). Encyclopedia of food microbiology. Academic Press, Elsevier. USA. Vol. 2. pp: 721-727.
- Dirección General de Normas. NMX-F-099-1970. Método de prueba para la determinación de pH en quesos procesados.

- Donnelly C. (2001). Factors associated with hygienic control and quality of cheeses prepared from raw milk: a review. *Bulletin International of Dairy Federation*. 369: 16-27.
- Donnelly C. (2005). The pasteurization dilemma. *American Farmstead Cheese*. In: Kindstedt P. (ed.). Vermont, EUA: Chelsea Green Publishing. pp: 173-195.
- Donnelly C. W. (2004). Growth and Survival of Microbial Pathogens in Cheese. In: Fox P. F., McSweeney P. L. H. and Cogan T.M. *Cheese chemistry, physics and microbiology. General Aspects*. Vol. 1. Third edition. Elsevier Academic Press. USA. pp: 541-560.
- Donnelly C. W. (2007). What factors should be considered to reduce coliform counts?. McSweeney P.H.L. (ed.). *Cheese problems solved*. CRC Press. USA. pp: 119-123.
- El-Gazzar F. E. and Marth E. H. (1992). *Salmonellae*, salmonellosis, and dairy foods: a review. *Journal of Dairy Science* 75(9): 2327-2343.
- Farkye N. and Vedamuthu E. (2002). Microbiology of soft cheeses. In: Robinson R.K. (ed.). *Dairy Microbiology Handbook*, 3rd edition. John Wiley and Sons Inc, Ames, Iowa, USA. pp: 479-514.
- Flisser A., Velasco-Villa A., Martínez-Campos C., González-Domínguez F., Briseño-García B., García-Suárez R., Caballero-Servín A., Hernández-Monroy I., García-Lozano H., Gutiérrez-Cogco L., Rodríguez-Angeles G., López-Martínez I., Galindo-Virgen S., Vázquez-Campuzano R., Balandrano-Campos S., Guzmán-Bracho C., Olivo-Díaz A., de la Rosa J. L., Magos C., Escobar-Gutiérrez A. and Correa D. (2002). Review article. Infectious Diseases in Mexico. A Survey from 1995–2000. *Archives of Medical Research* 33: 343–350
- Foryste S.J. (2000). *The Microbiology of Safe Food*. Blackwell Publishing Ltd. USA. 412 p.
- Fox P.F., Guinee P.T., Cogan M.T., Mc-Sweeney L.H. (2000). *Fundamentals of Cheese Science*. Maryland, USA: ASPEN Publication. pp: 557.
- Fraga-Cotelo M., Perelmuter-Schein K., Giacaman-Salvo S. S., Zunino-Abirad P. M., Carro-Techera S. B. (2013). Antimicrobial properties of lactic acid bacteria isolated from Uruguayan artisan cheese. *Food Science and Technology, Campinas*, 33(4): 801-804.
- Fuentes L, Mateo J, Quinto E, and Caro I. 2015. Changes in quality of nonaged pasta filata Mexican cheese during refrigerated vacuum storage. *J. Dairy Sci* 98:1-10.
- Fuentes L, Mateo J, Quinto E, and Caro I. 2015. Changes in quality of nonaged pasta filata Mexican cheese during refrigerated vacuum storage. *J. Dairy Sci* 98:1-10.
- 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 de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México. pp. 111.

- Grappin R. and Beuvier E. (1997). Review: Possible implications of milk pasteurization on the manufacture and sensory quality of ripened cheese. *International Dairy Journal* 7: 751-761.
- Guinee T. P. and Fox P.F. (2004). Salt in Cheese: Physical, Chemical and Biological Aspects. *In*: Fox P. F., McSweeney P. L. H. and Cogan T.M. Cheese chemistry, physics and microbiology. General Aspects. Vol. 1. Third edition. Elsevier Academic Press. USA. pp: 207-259.
- Guinee T.P. (2003). Role of protein in cheese and cheese products. *In*: Fox P. F. and McSweeney P.L.H. Advanced Dairy Chemistry. Vol. 1. Proteins. 3rd edn. Kluwer Academic/Plenum Publishers. pp: 1084-1174.
- Gunasekaran S. y Mehmet A. M. (2003). Cheese rheology and texture. CRC Press. USA. 435 p.
- Gutiérrez-Cogco, Montiel-Vázquez E., Aguilera-Pérez P., González-Andrade M. C. (2000). Serotipos de *Salmonella* identificados en los servicios de salud de México. *Salud Pública de México* 42 (6): 490-495.
- Hernández-Cortez C., Aguilera-Arreola M. G., y Castro-Escarpulli G. (2011). Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enf Inf Microbiol* 31 (4): 137-151.
- Hunt K., Butler F., and Jordan K. (2014). Factors affecting staphylococcal enterotoxin C_{bovine} production in milk. *International Dairy Journal* 39: 41-46.
- Ibraheem S. K., Alshaibani A. B., and Ad'hiah A. H. (2014). Protective effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Saccharomyces cerevisiae* against multi-drug resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium *in vitro* and *in vivo*. *World Journal of Pharmaceutical Research* 3 (10): 193-203.
- ICMSF. (1996) Microorganisms in Food 5: Microbiological Specifications of Food Pathogens. *In*: International Commission on Microbiological Specifications for Foods. eds. 1 ed, Blackie Academic and Professional, London.
- ISO 11866-1:2012. 2012. Milk and milk products, Enumeration of presumptive *Escherichia coli*, Part 1: Most probable number technique using 4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronide (MUG).
- ISO 8070:2007. Milk and milk products, determination of calcium, sodium, potassium and magnesium contents, atomic absorption spectrometric method.
- Jakobsena M. and Narvhus J. (1996). Review: Yeasts and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products. *International Dairy Journal* 6: 755-768.
- Jiménez-Edeza, M. y Chaidez-Quiroz C. (2013). La inocuidad de los alimentos en México. *In*: Zamilpa-Mejía N. G. (ed.). Panorama de la seguridad alimentaria y nutricional en México 2012. SAGARPA-SEDESOL-INSP-FAO. México. pp: 205-216.

- Kagkli, D. M., Vancanneyt M., Vandamme P., Hill C. and Cogan T.M. (2007). Contamination of milk by enterococci and coliforms from bovine faeces. *J. Appl. Microbiol.* 103: 1393–1405.
- Kailasapathy K. (2008). Chemical Composition, Physical and Functional Properties of Milk and Milk Ingredients. *In: Ramesh C. (ed.). Dairy Processing and Quality Assurance.* Editorial Wiley-Blackwell. pp: 75-104.
- Kindstedt, P.S., L.J. Kieley, and J.A. Gilmore. (1992). Variation in composition and functional properties within brine-salted Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science* 75:2913–2921.
- Licitra G. (2010). Worldwide traditional cheeses: Banned for business? *Dairy Science and Technology* 90: 357-374. DOI: 10.1051/dst/2010016.
- Lin C. J. (1995). Demographic and socioeconomic influences on the importance of food safety in food shopping. *Agricultural and Resource Economics Review* 02:190-198.
- Lindqvist R., Sylvén S., and Vågsholm I. (2002). Quantitative microbial risk assessment exemplified by *Staphylococcus aureus* in unripened cheese made from raw milk. *International Journal of Food Microbiology* 78: 155 – 170.
- Lucey J. A., Johnson M. E., and Horne D. S. (2003). Invited Review: Perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese. *Journal of Dairy Science* 86(9): 2725–2743.
- Lucey, J. A., and P. F Fox. 1993. Importance of calcium and phosphate in cheese manufacture: A review. *Journal of Dairy Science* 76:1714–1724.
- M de Oca-Flores E., Castelán-Ortega O. A., Estrada-Flores J. G. and Espinoza-Ortega A. (2009). Oaxaca cheese: Manufacture process and physicochemical characteristics. *International Journal of Dairy Technology* 62(4): 535-540. doi: 10.1111/j.1471-0307.2009.00533.x
- Maldonado R., Melendez B., Arispe, I., Boeneke, C., Torrico D. and Prinyawiwatkul. (2013). Effect of pH on technological parameters and physicochemical and texture characteristics of the pasta filata cheese Telita. *Journal of Dairy Science* 96(12): 7414–7426.
- Manrique-Saide P. C. y Delfín-González H. (1997). Importancia de las moscas como vectores potenciales de enfermedades diarreicas en humanos. *Rev Biomed* 8:163-170.
- Marcos A. (1993). Water activity in cheese in relation to composition, stability and safety. *In: Fox, P.F. (ed.). Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. General Aspects.* Chapman & Hall, London. Vol 1. 2nd edn. pp: 439–469.
- Medina-Villalva E. (2008). El queso Oaxaca artesanal: ¿un producto “pasteurizado”? Tesis de Licenciatura. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo, México.

- Moatsou G. and Moschopoulou E. (2015). Microbiology of Raw Milk. *In*: Özer B. H. and Akdemir-Evrendilek G. (Eds). Dairy Microbiology and Biochemistry: Recent Developments. CRC Press. USA. pp: 1-38.
- Montel M. C., Buchine S., Mallet A., Delbes-Paus C., Vuitton D. A., Desmasures N. and Berthier F. (2014). Traditional Cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. Review. *International Journal of Food Microbiology* 177:136-154.
- Montgomery D. 1991. Diseño y análisis de experimentos. Ed. John Wiley.
- Morales-Celaya M. F., Lobato-Calleros C., Alvarez-Ramirez J., y Vernon-Carter E.J., (2012). Effect of milk pasteurization and acidification method on the chemical composition and microstructure of a Mexican pasta filata cheese. *LWT - Food Science and Technology* 45: 132-141.
- Moster J. F. and Jooste P. J. (2002). Quality control in the dairy industry. *In*: Robinson R.K. [ed.]. Dairy Microbiology Handbook, 3rd edition. John Wiley and Sons Inc, Ames, Iowa, USA. pp: 655-736.
- Mostert J. F. and Buys E. M. (2008). Hygiene by Design. *In*: Britz T. J. and Robinson R. K. (eds), Advanced dairy science and technology. Blackwell Publishing Ltd, USA. pp: 75-120.
- Muchnik, J. (2006). Identidad territorial y calidad de los alimentos: Procesos de calificación y competencias de los consumidores. *Agroalim*, 11(22). Obtenido de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S1316-03542006000100008&script=sci_arttext
- Mufandaedza J., Viljoen B.C., Feresu S.B. and Gadaga T.H. (2006). Antimicrobial properties of lactic acid bacteria and yeast-LAB cultures isolated from traditional fermented milk against pathogenic *Escherichia coli* and *Salmonella enteritidis* strains *International Journal of Food Microbiology* 108: 147 – 152.
- Núñez Hernández A. (2007). La denominación de origen: su aplicación potencial en quesos mexicanos. Tesis profesional. Chapingo, México. 128 p.
- Oliver S. P., and Jayarao B. M. (2005). Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: Food safety and public health implications. *Foodborne Path. Dis.* 2: 115–129.
- Pantoja J. C. F., Reinemann D. J., and P. L. Ruegg. (2011). Factors associated with coliform count in unpasteurized bulk milk. *Journal of Dairy Science* 94 :2680–2691.
- Parrilla-Cerrillo M. C., Vázquez-Castellanos J. L., Saldate-Castañeda E. O., Nava-Fernández L. M. (1993). Brotes de toxiinfecciones de origen microbiano y parasitario. *Salud Pública de México* 35 (5): 453-466.
- Pintado M., Gomes-da-Cruz A. and Zacarchenco-Rodrigues-de-Sá P. B. (2015). Cheese microbiology. *In*: Özer B. H. and Akdemir-Evrendilek G. (eds). Dairy Microbiology and Biochemistry: Recent Developments. CRC Press. USA. pp: 113-133.

- PROFECO. (2012). Estudio de calidad Quesos Oaxaca, Revista del Consumidor, junio, p. 38-47. En línea http://www.consumidor.gob.mx/wordpress/wp-content/uploads/2012/07/RC424_38-47_LABORATORIO.pdf (Fecha de consulta: 17 de abril de 2013).
- Quinto E.J. and Cepeda A. (1997). Incidence of toxigenic *Escherichia coli* in soft cheese made with raw or pasteurized milk. Letters in Applied Microbiology 24: 291–295.
- Renda, A., Barbano D. M., Yun J. J., Kindstedt P. S. and Mulvaney S. J. (1997). Influence of screw speeds of the mixer at low temperature on characteristics of Mozzarella cheese. Journal of Dairy Science 80:1901–1907.
- Robinson R. K. and Tamime A. Y. (2002). Maintaining a clean working environment. In: Robinson R.K (ed.). Dairy Microbiology Handbook, 3rd edition. John Wiley and Sons Inc, Ames, Iowa, USA. pp: 515-560.
- Rosengren Å., Fabricius A., Guss B., Sylén S. and Lindqvist R. (2010). Occurrence of foodborne pathogens and characterization of *Staphylococcus aureus* in cheese produced on farm dairies. International Journal of Food Microbiology 144: 263–269.
- Rubin E. (1985). Protective effect of casein toward *Salmonella typhimurium* in acid-milk. Journal of Applied Bacteriology 58: 251-255.
- Ryser E.T. (2012). Safety of dairy products. In: Oyarzabal O. A. and Backert S. (eds.). Microbial food safety: an introduction. USA, Springer. pp: 127-145.
- Saris E. J. (2015). Biopreservation by Lactic Acid Bacteria. In: Özer B. H. and Akdemir-Evrendilek G. (eds.). Dairy microbiology and biochemistry: recent developments. CRC Press. USA. pp: 86-94.
- Saxer S., Miescher S. S., and Lacroix C. (2013). Characterization of the microflora of industrial mexican cheeses produced without added chemical preservatives. LWT-Food Science and Technology 53: 314-320.
- Secretaría de Salud. (1994). NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- Secretaría de Salud. (1994). NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
- Secretaría de Salud. (1994). NOM-114-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos.
- Secretaría de Salud. (1994). NOM-115-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos.
- Secretaría de Salud. (2010). NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
- Secretaría de Salud. (2012). Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de la Enfermedad Diarreica Aguda mediante la Estrategia de Núcleos Trazadores (NuTraVE). Impresora y encuadernadora Progreso, S.A. de C.V. México. p: 57.

- Secretaría de Salud. (2015). NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos y toxinas microbianas.
- Secretaría de Salud.(1994). NOM-113-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
- Şenel E. and Gürsoy A. (2015). Microbiology of Processed Liquid Milk. *In: Özer B. H. and Akdemir-Evrendilek G. (eds). Dairy microbiology and biochemistry: recent developments.* CRC Press. USA. pp: 95-112.
- Silva F. V. M., Gibbs P. A., Nuñez H., Almonacid S. y Simpson R. (2014). Pasteurization. *In: Batt C. A. and Tortorello M. L (eds). (2014). Encyclopedia of food microbiology.* Academic Press, Elsevier. USA. Vol. 3. pp: 577-595.
- Singh T. K. and Cadwallader K. R. (2008). Cheese. *In: Ramesh C. (ed.). Dairy processing and quality assurance: an overview.* Editorial Wiley-Blackwell. pp: 273-307.
- Szala B., Paluszak Z., and Motyl I. (2012). Antagonistic effect of lactic acid bacteria on *Salmonella* Senftenberg in mixed cultures. *Pol. J. Environ. Stud.* 21(5): 1399-1403.
- Tamime A. (2002). Microbiology of starter cultures. *In: Robinson R.K. (ed.). Dairy microbiology handbook, 3rd edition.* John Wiley and Sons Inc, Ames, Iowa, USA. pp: 261-366.
- Teunis P. F. M, Kasuga F., Fazil A., Ogden I. D., Rotariu O., and Strachan N. J.C. (2010). Dose–response modeling of *Salmonella* using outbreak data. *International Journal of Food Microbiology* 144: 243–249.
- Viljoen B. C. (2001). The interaction between yeasts and bacteria in dairy environments. *International Journal of Food Microbiology* 69: 37–44.
- Villanueva-Carvajal, A., M. Esteban-Chavez, A. Espinoza-Ortega, C. M. Arriaga-Jordan, and A. Dominguez-Lopez. 2012. Oaxaca cheese: Flavour, texture and their interaction in a Mexican traditional pasta filata type cheese. *CyTA J. Food* 10:63–70. DOI: 10.1080/19476337.2011.557840
- Walstra P., Wouters J. T. M., and Geurts T. J. (2006). Dairy science and technology. CRC Press. USA. pp:763.
- Wang C, Chang T., Yang H. and Cui M. (2015). Antibacterial mechanism of lactic acid on physiological and morphological properties of *Salmonella* Enteritidis, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control* 47: 231-236.
- Wang C., Chang T., Yang H., and Cui M. (2014). Surface physiological changes induced by lactic acid on pathogens in consideration of pKa and pH. *Food Control* 46: 525-531.
- Yun J.J., Barbano D. M., Larose K. L. y Kindstedt P. S. (1994). Effect of stretching temperature on chemical composition, microstructure, proteolysis, and functional properties of Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science* 77(1): 34.
- Yun J.J., Kiely L. J., Barbano D. M. y Kindstedt P. S. (1993). Mozzarella cheese: impact of cooking temperature on chemical composition, proteolysis, and functional properties. *Journal of Dairy Science* 76:3664–3673.

**CAPÍTULO 3. DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL
DEL QUESILLO DE REYES, ETLA OAXACA**

DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ANAQUEL DEL QUESILLO DE REYES, ETLA OAXACA

SHELF LIFE DETERMINATION OF THE QUESILLO CHEESE FROM REYES, ETLA, OAXACA

Márquez Roa Laura Martin¹ y Villegas de Gante Abraham²

RESUMEN

La vida de anaquel del Quesillo se evaluó manteniéndolo en cadena de frío, en dos queserías, en la época de secas (2015). Se determinó un período de 14 días como fecha de consumo preferente, esto obtenido mediante el análisis de supervivencia. La disminución estadísticamente significativa en la aceptabilidad global no se relacionó directamente con la probabilidad de rechazo del consumo. Los consumidores penalizaron la disminución de la hebrasidad, la presencia de textura demasiado masosa, la poca humedad, el desarrollo de sabor demasiado amargo, un alto contenido de sal y la presencia de color demasiado amarillo.

Palabras clave: Queso artesanal, pasta filata, evaluación sensorial, análisis de supervivencia.

ABSTRACT

Shelf life of Quesillo cheese was assessed by preserving it in a cold chain, in two dairies in the 2015 dry season. The best before date was established as 12 days by survival analysis. A significant decrease in overall acceptability was not directly related to the probability of product consumption being rejected. Consumers penalized the threadness decrease, excessively soft texture, low moisture, an overly bitter taste, a high salt content and an overly yellow color.

Keywords: artisanal cheese, pasta filata, sensory analysis, survival analysis.

¹Tesista

² Director

1. INTRODUCCIÓN

Durante la vida de anaquel un producto deberá permanecer inocuo, mantener su apariencia, olor, textura y sabor característico, así como cumplir con la declaración nutricional establecida en la etiqueta (NZFSA, 2005). La vida de anaquel desde el punto de vista sensorial está definida por el tiempo en el cual el consumidor rechaza la compra o el consumo de un alimento, por lo que su delimitación es fundamental para una comercialización exitosa (Giménez *et al.*, 2012). La vida de anaquel de un producto inicia desde que el alimento es preparado o manufacturado. Su periodo depende de muchos factores que incluyen los tipos de ingredientes, los procesos de manufactura, el tipo de envase y las condiciones de almacenamiento (NZFSA, 2005).

La NOM-051-SCFI-SSA1-2010 establece que la fecha que se indica en la etiqueta del producto puede declararse como fecha de caducidad o fecha de consumo preferente. La primera se refiere a fecha límite en la que se considera que las características sanitarias y de calidad que un producto preenvasado debe reunir para su consumo se reducen o eliminan, de tal manera que después de esta fecha no debe comercializarse ni consumirse. La segunda corresponde a la fecha en que expira el periodo durante el cual el producto preenvasado es comercializable y mantiene sus cualidades específicas, pero después de ésta el producto preenvasado puede ser consumido. La diferencia se basa en el riesgo para la salud asociado a su consumo.

Las tres principales categorías de deterioro en alimentos que pueden ocurrir son físicas, químicas, y microbiológicas (Singh y Anderson, 2004). En general, los estudios para estudiar el deterioro de alimentos pueden ser divididos en cuatro categorías: evaluación sensorial, calidad microbiológica, propiedades fisicoquímicas y apariencia física (NZFSA, 2005). Cuando se utiliza la evaluación sensorial se valora el olor, la apariencia, el sabor, y la textura de un alimento, lo que se puede utilizar para supervisar y registrar los cambios que se producen con el tiempo, y es por lo tanto útil para determinar la vida de anaquel de un alimento. Los alimentos deben ser evaluados en las condiciones en las que se almacenan y consumen normalmente (NZFSA, 2005).

La evaluación sensorial involucra el desarrollo y uso de principios y métodos para medir respuestas humanas a productos e ingredientes. En la evaluación sensorial un común denominador es la tarea que realiza el humano como evaluador (Hernández, 2007), lo que provee información valiosa acerca del comportamiento que el consumidor tendrá con relación a un alimento que se le ofrece. Las técnicas sensoriales para determinar la vida de anaquel de los alimentos incluye métodos basados en la calidad: dentro de los que están la prueba diferencia de control, la intensidad de los atributos sensoriales, y métodos de escalas de calidad. Otras metodologías son establecer un límite en la disminución de aceptabilidad global, establecer un punto de corte (“cut-off point”), y el análisis de supervivencia (Giménez *et al.*, 2012).

El análisis de supervivencia es una metodología estadística basada en la probabilidad de aceptación o rechazo del consumidor hacia un producto. El análisis de supervivencia se ha utilizado para determinar la vida de anaquel en productos alimenticios, como son queso Ricotta (Hough *et al.*, 1999), pan blanco (Gámbaro *et al.*,

2004), carne molida (Hough et al., 2007), yogur probiótico (Cruz et al., 2010), queso Halloumi (KamLeh, 2012), y en papa (Macavilca, 2011), entre otros. Para la realización del análisis de supervivencia, Hough *et al.* (2007) determinaron que 120 es el número adecuado de consumidores, esto cuando se emplea un diseño escalonado y los datos siguen una distribución Weibull. Además se recomienda evaluar al menos 6 intervalos de tiempo cuando la vida de anaquel termina aproximadamente a la mitad del estudio.

El análisis de penalización del promedio de la aceptabilidad global combina las pruebas JAR y de aceptabilidad global para relacionar una disminución en la aceptación de los atributos que no están en un nivel JAR (Lawless y Heymann, 2010). La escala JAR se ha utilizado para determinar la concentración adecuada de los atributos que afectan la aceptabilidad de un producto, principalmente durante la fase de investigación y desarrollo (Popper y Kroll, 2005; Li *et al.*, 2014). Por ejemplo, este método se utilizó para determinar el nivel óptimo del edulcorante de estevia en yogur de vainilla (Narayanan *et al.*, 2014).

Por lo que los objetivos de este trabajo fueron determinar vida sensorial de anaquel del Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, almacenado a 4 °C, mediante análisis de supervivencia, midiendo la variación de algunos atributos fisicoquímicos (composición básica, pH, color, e intensidad de la hebrasidad) durante el almacenamiento; así como, determinar la influencia de la adecuación de los niveles de atributos sensoriales, percibidos por consumidores, en la aceptación global del Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, que tienen que ver con el rechazo del consumo de este producto durante el almacenamiento y al término de la vida de anaquel.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Plan de muestreo

Para la determinación de la vida sensorial de anaquel se empleó un diseño de experimento escalonado (Hough, 2010). Éste consistió en traer un lote final de Quesillo, de cada quesería, que estuvo integrado por sub-muestras elaboradas en cada intervalo de tiempo por evaluar. Las muestras se almacenaron en refrigeración, a 4 °C, teniendo como tiempo máximo de evaluación 17 días y mínimo de 2 días, al momento del análisis. De esta manera, las muestras de Quesillo tuvieron: 2, 5, 8, 11, 14 y 17 días de elaboración. Las muestras obtenidas se mantuvieron en cadena de frío hasta el momento del análisis.

2.2. Análisis de supervivencia

La prueba se condujo con un grupo de consumidores (n= 120) conformado por estudiantes y personal administrativo de la Universidad Autónoma de Chapingo, 70 de los cuales fueron mujeres y 50 hombres, entre los 15 y 64 años de edad. El Quesillo se cortó en tiras de 5 cm, con un peso aproximado de 10 g, se presentaron en orden aleatorio y balanceado en platos, codificados con números aleatorios de 3 dígitos.

Una vez proporcionadas las muestras de Quesillo, se indicó a los consumidores que lo probaran y evaluaran los atributos de apariencia, textura, aroma y sabor. Posteriormente, se cuestionó a los consumidores sobre su aceptación o rechazo para

consumir las diferentes muestras de Quesillo de manera habitual. Los datos obtenidos se clasificaron en intervalos de tiempo, a lo que se le denomina “censura”.

2.3. Análisis fisicoquímico instrumental y textura sensorial (hebrosidad)

2.3.1. Análisis fisicoquímico instrumental

La medición del pH se realizó de acuerdo a la NMX-F-099-1970 con la modificación de que se utilizaron 5 g de muestra y 45 mL de agua. Se utilizó un potenciómetro marca Hanna Instruments, calibrado con una solución buffer pH 7.0 (J.T. Baker, México), las mediciones se realizaron a 24 °C. Se determinó el contenido de humedad, la grasa, la proteína, y el contenido de NaCl mediante el análisis con infrarrojos por transformada de Fourier con el equipo FoodScan™. El color de los quesos se midió utilizando un espectrofotómetro MiniScan 45/0 LAV (HunterLab, Hunter Associates Laboratory, EE. UU). Se obtuvieron los valores de L^* , a^* , b^* utilizando la escala CIELAB, con D65 como iluminante, y con un ángulo del observador de 10°. Se calcularon el tono y la pureza del color, $(\tan^{-1}(b^* \cdot a^{*-1}), (a^{*2} + b^{*2})^{(1/2)})$.

2.3.2. Análisis sensorial de la intensidad de la hebrosidad

Se conformó un panel de 9 personas (cinco mujeres y cuatro hombres, de entre 21 y 29 años) considerando su habilidad sensorial, para el análisis descriptivo de la hebrosidad del Quesillo. Los panelistas fueron entrenados durante un lapso de dos semanas, hasta completar 15 horas en total, para familiarizarse con la metodología, la escala y el atributo por evaluar. La fase de entrenamiento inició con una plática de orientación en la que se explicaron los objetivos del trabajo. En las sesiones posteriores

se definió el concepto de hebrasidad, las referencias a utilizar y su ubicación en la escala.

A cada panelista, y de forma aleatoria, se le sirvieron tiras de queso Oaxaca, a temperatura ambiente (20 ± 2 °C), en platos codificados con números aleatorios de tres dígitos. Cada muestra fue evaluada por quintuplicado por cada panelista. El parámetro se evaluó según lo descrito por Medina-Villalva (2008) para lo cual se cortaron tiras, de 6 cm de largo por 3 de ancho con un grosor de 1 cm de Quesillo medidas en dirección paralela de la hebra. El inicio de la prueba se realizó tomando uno de los extremos de la porción de Quesillo con los dedos pulgares e índice y se aplicó una fuerza de tensión hacia los lados (en el sentido opuesto del hilado) tratando de que se desgarrara por el centro. Se observó la formación de hilos y la percepción de la hebrasidad fue señalada, en la escala tomando en cuenta las referencias.

La evaluación final de la hebrasidad del Quesillo con diferente tiempo de almacenamiento proveniente de las queserías se realizó durante dos sesiones, una por cada quesería. Las evaluaciones se condujeron en un laboratorio de evaluación sensorial con cabinas individuales e iluminadas con luz de día artificial. Los panelista siempre tuvieron disponibles las referencias.

2.4. Pruebas de aceptación por consumidores

A la par del análisis de supervivencia, se aplicaron pruebas de aceptabilidad global y por atributos. Los atributos sensoriales que los consumidores tomaron en cuenta para rechazar la compra de Quesillo se obtuvieron mediante la técnica TKJ. Para esto se conformó un grupo focal de ocho personas consumidoras habituales de Quesillo, mismo

que se integró por un hombre y siete mujeres. Las edades de los integrantes fueron de 25 a 60 años. Se repartieron hojas en blanco a cada participante y se les pidió que enlistaran las características que toman en cuenta para rechazar el consumo de Quesillo.

Para realizar las pruebas de aceptabilidad, las muestras de Quesillo con diferente tiempo de almacenamiento se presentaron en forma monádica y fueron evaluadas utilizando una escala hedónica de 9 puntos, donde 9 correspondió a me agrada extremadamente y 1 a me disgusta extremadamente.

2.5. Análisis de penalización del promedio de la aceptabilidad global

Los panelistas no entrenados evaluaron la aceptabilidad global de las muestras correspondientes a cada fecha de almacenamiento y los niveles JAR (Just about right) de los atributos (Lawless y Heymann, 2010). Para los niveles JAR, los panelistas evaluaron las muestras de Quesillo en una escala JAR de 3 puntos (1= poco, 2= adecuado, 3= demasiado) en los atributos de aroma / olor, adhesividad al tacto, humedad al tacto, textura masosa, hebrasidad, color amarillo, sabor amargo y contenido de sal. Con los datos obtenidos se realizó un análisis de penalización del promedio de la aceptabilidad global considerando aquéllos atributos con diferencia estadística entre el nivel adecuado y no adecuado. Además del cálculo de la diferencia estadística, se realizaron los mapas de efecto sobre la media para cada una de las muestras evaluadas, lo que permitió observar la frecuencia considerada para el nivel de cada atributo y su efecto sobre la aceptabilidad global. Los valores positivos significaron una reducción sobre la aceptabilidad global, mientras los valores negativos significaron que su presencia, ya sea en un nivel alto o bajo, incrementaron la aceptabilidad global del producto.

Para realizar el análisis de los datos sensoriales por penalización del promedio de la aceptabilidad global, según la ASTM International, se seleccionaron aquellos atributos que tuvieron más del 20 % de respuestas en alguna de las dos categorías no-adequado; en los atributos seleccionados, a la aceptabilidad del valor considerado como adecuado se le restó el valor de la aceptabilidad del nivel no adecuado. Con el valor de la diferencia estandarizado se condujo una prueba t para dos muestras con la finalidad de probar la significancia de la disminución de la media de la aceptabilidad ($P < 0.05$). Finalmente, el valor de la penalización de la aceptabilidad global se calculó multiplicando el porcentaje de consumidores ubicados dentro de la escala no-adequado con el valor de la disminución de la media de la aceptabilidad global (Narayanan *et al.*, 2013).

2.6. Análisis estadístico

2.6.1. Análisis de supervivencia

Para la determinación de la distribución con el mejor ajuste, los datos censurados se analizaron mediante una gráfica de identificación de distribuciones (censura arbitraria) mediante el análisis estadístico de confiabilidad/supervivencia, en el programa Minitab® 15.1.20.0. La distribución con el mejor ajuste fue determinada con el estadístico Anderson-Darling. El método de estimación fue el de máxima verosimilitud.

Posteriormente, se realizó un análisis de distribución paramétrico con censura arbitraria. Los datos se ajustaron a la distribución Weibull, se estimaron los parámetros de forma (σ) y de escala (μ); los percentiles; la probabilidad de supervivencia; y se obtuvo la gráfica de supervivencia. La vida útil correspondió al día en el que se tuvo un

50 % en la probabilidad de la aceptabilidad/rechazo, lo cual corresponde a la mediana de la distribución (percentil 50) (Cardelli y Labuza, 2001; Hough *et al.*, 2003; Hough, 2010).

2.6.2 Análisis fisicoquímico instrumental y textura sensorial (hebrosidad)

Análisis fisicoquímico instrumental. Para el análisis de la calidad fisicoquímica se empleó un diseño en bloques completos al azar (Montgomery, 1991). La unidad experimental fue una pieza de Quesillo de 500 g, las pruebas se realizaron con tres repeticiones. Se usó la prueba de diferencia honesta significativa (DHS) de Tukey para las comparaciones de medias. Los datos se analizaron con el paquete SAS versión 9.1 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, EEUU). Para conocer las variables que caracterizaron cada muestra de Quesillo en las fechas de almacenamiento, se realizó una representación biplot de las calificaciones y las cargas de las variables fisicoquímicas en el plano definido por los componentes 1 y 2. Para esto se utilizó el programa estadístico XLSTAT 2015 (Addinsoft, New York, NY).

Análisis de la textura sensorial (intensidad de la hebrosidad). Para la medición de la hebrosidad se empleó un diseño de bloques completos al azar con un arreglo en parcela dividida, donde la parcela mayor fueron los panelistas, la parcela menor los quesos, las repeticiones se consideraron como bloques y se evaluó la interacción panelista*tratamiento. Las separaciones de medias se realizaron mediante el procedimiento de diferencia mínima significativa (DMS) empleando el programa SAS versión 9.1 (SAS Institute, Inc., Cary, NC).

2.6.3. Pruebas de aceptación por consumidores

Los datos de aceptabilidad global y por atributos se analizaron mediante un diseño de bloques completamente al azar, donde los bloques fueron los consumidores, para comparar las medias se empleó la diferencia mínima significativa (DMS), el programa utilizado fue SAS versión 9.1 (SAS Institute, Inc., Cary, NC). Se elaboró un mapa de preferencia externo con los datos obtenidos de la prueba de aceptabilidad global y por atributos mediante un análisis de componentes principales donde se ubicaron las calificaciones (muestras y cargas) de los días de almacenamiento respecto a las variables de la aceptabilidad por atributos. Los mapas de preferencia se obtuvieron mediante el programa XLSTAT 2015 (Addinsoft, New York, NY).

2.6.4. Análisis de penalización del promedio de la aceptabilidad global

Para el análisis de penalización del promedio de la aceptabilidad global, los resultados de los análisis sensoriales se analizaron por diferencia significativa de las diferencias estandarizadas usando una prueba t para 2 muestras ($P < 0.05$) en el programa estadístico XLSTAT 2015 (Addinsoft, New York, NY). Este mismo programa generó los mapas de frecuencia y efecto sobre el promedio de la aceptabilidad global.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis de supervivencia

Las respuestas obtenidas de los consumidores acerca de la aceptación/rechazo del Quesillo con diferentes tiempo de almacenamiento, se censuraron de acuerdo a los casos que aparecen en el Cuadro 1, según lo mencionado por Hough *et al.* (2003). De esta manera, el número de panelistas que no se consideraron fueron 43, en la quesería A, y 41, en la quesería B; éstos correspondieron a las personas que rechazaron el consumo de la muestra fresca, lo que indica que prefieren las muestras maduradas, por lo que pueden considerarse dentro de otro grupo de consumidores (Hough *et al.*, 2003). El número de consumidores censurados a la derecha fue menor en la quesería A que en la B (22 contra 30), este tipo de censura abarca a los consumidores que aceptan todas las muestras del intervalo de evaluación de la vida sensorial de anaquel. Los panelistas censurados en intervalo fue muy similar en ambas queserías (41 en la quesería A, y 46 en la quesería B), este tipo de censura incluyó a aquéllos consumidores en los cuales no se conoció, de manera exacta, el tiempo de almacenamiento en el que ocurrió el rechazo del producto. En la quesería A se presentó un mayor número de panelistas censurados a la izquierda (14 contra 3), dentro de estas personas se consideró a aquéllas que dieron respuestas alternadas si/no. Para establecer la fecha de este tipo de censura se tomó en cuenta al último día en que se presentó el rechazo del producto.

Cuadro 1. Datos de aceptación / rechazo de ocho sujetos quienes probaron muestras de Quesillo con diferentes tiempos de almacenamiento a 4 °C.

Panelista	tiempo de almacenamiento (días)						Censura
	2	5	8	11	14	17	
1	no	no	si	no	no	si	no considerado
2	si	si	no	si	no	no	intervalo: 5-14
3	si	si	si	no	si	no	intervalo: 8-17
4	si	si	no	no	si	no	intervalo: 5-17
5	si	no	si	si	si	no	izquierda: ≤ 17
6	si	si	no	no	no	si	derecha: > 17
7	si	si	no	si	si	si	derecha: > 17
8	si	si	si	si	si	si	derecha: > 17

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales

Una vez que se los datos de aceptación/rechazo se clasificaron dentro de los diferentes tipos de censura, se procedió a evaluar la bondad de ajuste en siete modelos de distribución, lo anterior tomando como referencia al valor más bajo del estadístico Anderson-Darling (Cuadro 2). En ambas queserías, la distribución Weibull presentó un mejor ajuste a los datos, este modelo ha sido frecuentemente utilizado en los estudios de análisis de supervivencia en varios productos (Hough *et al.*, 2003). Lo anterior fue similar en ambas queserías.

Cuadro 2. Valores Anderson-Darling de siete modelos de distribución para datos censurados de aceptación/rechazo del Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca, proveniente de las queserías A y B, mantenido a 4 °C durante el almacenamiento.

Distribución	Quesería	
	A Anderson-Darling (ajust.)	B Anderson-Darling (ajust.)
Weibull	8.33	18.334
Normal	8.334	18.336
Lognormal	8.336	18.338
Loglogística	8.34	18.341
Logística	8.343	18.343
Valor extremo más pequeño	8.345	18.365
Exponencial	8.74	18.581

Fuente: Elaboración propia

Una vez que se probó la bondad de ajuste de los datos censurados a la distribución Weibull, se empleó la función de máxima verosimilitud para estimar los parámetros de forma y escala de dicho modelo, con intervalos de confianza al 95 %. Con estos parámetros se estimó la función de supervivencia, además se obtuvieron las características de distribución, donde la mediana correspondió a la fecha en la que se presentó un 50 % de probabilidad de aceptación/rechazo. Estos datos se muestran en el Cuadro 3.

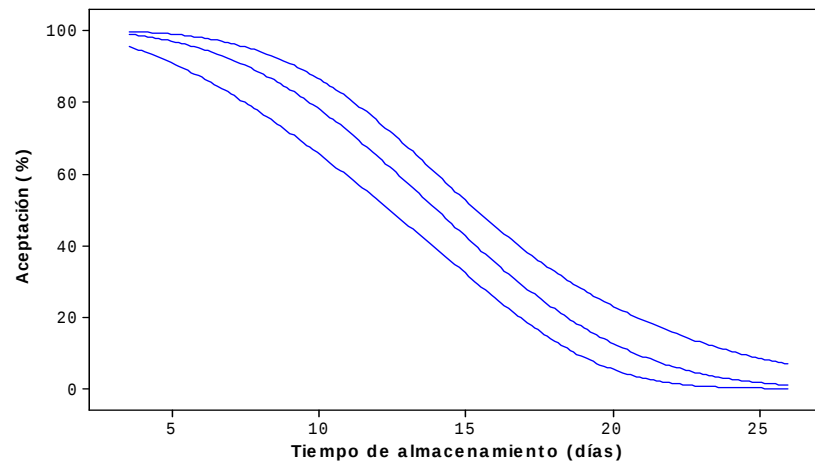
Cuadro 3. Parámetros estimados y mediana de la distribución Weibull para los datos censurados de aceptación/rechazo del Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca, mantenido a 4 °C durante su almacenamiento, proveniente de la quesería A y B.

Parámetros	Quesería	Estimado	Error estándar	IC normal de 95.0 %	
				Inferior	Superior
Forma	A	3.06	0.49	2.23	4.19
	B	2.00	0.29	1.51	2.65
Escala	A	15.78	0.72	14.42	17.26
	B	16.87	1.25	14.59	19.50
Mediana	A	13.99	0.71	12.66	15.47
	B	14.04	1.03	12.15	16.22

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

En la Figura 1 se observa la *función de supervivencia* para la distribución paramétrica Weibull, en las queserías A y B queserías, donde el fin de la vida sensorial de anaquel correspondió a los días en que existió un 50 % de probabilidad de aceptación/rechazo para el consumo de Quesillo. El término de la vida sensorial de anaquel fue de aproximadamente 14 días para ambas queserías; de manera particular, en la quesería A fue de 13.99 días (en un intervalo de 12.66 a 15.47 días), mientras que en la quesería B se presentó a los 14.04 (en un intervalo de 12.5 a 16.22 días).

(a)



(b)

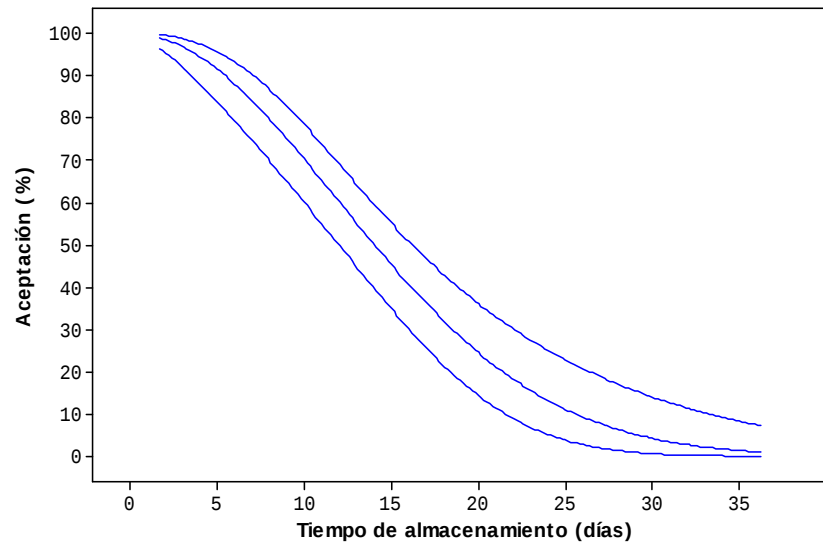


Figura 1. Probabilidad de aceptación del consumo de Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, mantenido a 4 °C, de la quesería A (a) y B (b) durante un periodo de almacenamiento, con límite superior e inferior.

Con la información generada es posible determinar que el Quesillo puede clasificarse como un queso fresco, ya que tiene como vida sensorial de anaquel un periodo aproximado de 14 días, cuando es mantenido en condiciones de cadena de frío. Lo anterior hace suponer que la velocidad de sus cambios deriva de una maduración muy acelerada que puede estar influenciada por la prolongada fermentación y por el

abundante crecimiento de microorganismos durante el proceso de hechura. Esto se puede explicar, al igual que en queso Mozzarella, por la proteólisis de la caseína α_{s1} , con lo que la matriz de proteína se reorganiza y debilita resultando en un queso más blando, menos elástico, y más fundible. En este sentido a pesar de que se le considera un queso fresco, dichos cambios entran en el concepto de maduración, ya que se define como un proceso natural de reacciones microbianas y bioquímicas que ocurren en la pasta del queso después de su manufactura y durante el almacenamiento (Gunasekaran y Mehmet, 2003).

3.2. Análisis fisicoquímico instrumental y textura sensorial (hebrosidad)

3.2.1. Análisis fisicoquímico instrumental

El Cuadro 4 muestra la composición básica, el pH, y el color instrumental del Quesillo con diferentes días de almacenamiento de las queserías A y B. Respecto a la composición básica se encontró que en ambas queserías existió diferencia estadística en los atributos de humedad, grasa, y proteína durante el almacenamiento ($p < 0.05$). Adicionalmente, en la quesería A existió diferencia estadística en el contenido de sólidos totales, y en la quesería B la variación del contenido de sal fue estadísticamente significativa. La diferencia encontrada en la composición de las muestras de Quesillo durante el almacenamiento no sigue una tendencia hacia el aumento o la disminución de los parámetros estudiados. Lo anterior puede deberse a que durante su elaboración se sigue un proceso completamente artesanal, en el que no se mide ni se controla ningún parámetro de manera instrumental, lo cual genera heterogeneidad entre los lotes provenientes de diferentes fechas de manufactura.

Cuadro 4. Variación de la composición química básica, pH, color instrumental y hebrasidad de Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, mantenido a 4 °C, de la quesería A y B durante el periodo de almacenamiento evaluado (promedio $\pm$ desviación estándar).

Q	TA	Humedad (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	Sal (%)	Sólidos totales (%)	pH	Luminosidad	Tono ¹	Pureza
A	2	46.36 $\pm$ 0.51 ^a	26.39 $\pm$ 0.36 ^a	22.19 $\pm$ 0.21 ^a	1.62 $\pm$ 0.06 ^a	53.64 $\pm$ 0.51 ^a	5.50 $\pm$ 0.02 ^a	82.74 $\pm$ 0.80 ^a	81.14 $\pm$ 0.06 ^a	21.03 $\pm$ 0.63 ^a
	5	48.00 $\pm$ 0.32 ^a	23.43 $\pm$ 0.15 ^b	23.70 $\pm$ 0.12 ^a	1.56 $\pm$ 0.13 ^a	52.01 $\pm$ 0.32 ^a	5.59 $\pm$ 0.03 ^b	81.72 $\pm$ 1.90 ^a	81.77 $\pm$ 0.38 ^a	20.83 $\pm$ 0.78 ^a
	8	48.40 $\pm$ 1.05 ^a	22.46 $\pm$ 0.37 ^b	23.59 $\pm$ 0.46 ^a	1.58 $\pm$ 0.16 ^a	51.60 $\pm$ 1.05 ^a	5.68 $\pm$ 0.01 ^c	83.49 $\pm$ 0.14 ^a	82.86 $\pm$ 0.03 ^b	21.76 $\pm$ 0.37 ^a
	11	47.19 $\pm$ 0.30 ^a	23.23 $\pm$ 0.12 ^b	24.76 $\pm$ 0.18 ^b	1.40 $\pm$ 0.02 ^a	52.81 $\pm$ 0.30 ^a	5.77 $\pm$ 0.01 ^d	81.81 $\pm$ 0.79 ^a	82.08 $\pm$ 0.19 ^b	22.71 $\pm$ 0.33 ^a
	14	47.50 $\pm$ 1.73 ^a	23.48 $\pm$ 0.91 ^b	23.86 $\pm$ 0.69 ^a	1.48 $\pm$ 0.12 ^a	52.50 $\pm$ 1.73 ^a	5.70 $\pm$ 0.03 ^b	83.21 $\pm$ 1.76 ^a	82.61 $\pm$ 0.24 ^b	21.90 $\pm$ 0.63 ^a
	17	50.54 $\pm$ 0.92 ^b	19.70 $\pm$ 0.18 ^b	24.75 $\pm$ 0.60 ^b	1.26 $\pm$ 0.02 ^a	49.46 $\pm$ 0.92 ^b	5.57 $\pm$ 0.02 ^a	80.26 $\pm$ 0.49 ^a	81.34 $\pm$ 0.01 ^a	22.88 $\pm$ 0.44 ^a
	DMS	3.77	1.75	1.73	0.41	3.77	0.09	4.65	0.75	2.58
B	2	42.86 $\pm$ 0.41 ^a	28.48 $\pm$ 0.12 ^a	23.80 $\pm$ 0.35 ^a	1.76 $\pm$ 0.08 ^a	57.14 $\pm$ 0.41 ^a	5.62 $\pm$ 0.12 ^a	84.18 $\pm$ 0.89 ^a	79.97 $\pm$ 0.27 ^a	19.23 $\pm$ 0.30 ^a
	5	44.04 $\pm$ 0.44 ^a	24.74 $\pm$ 0.33 ^b	26.75 $\pm$ 0.08 ^b	1.78 $\pm$ 0.06 ^a	55.96 $\pm$ 0.44 ^a	5.60 $\pm$ 0.05 ^a	79.42 $\pm$ 1.44 ^a	80.86 $\pm$ 0.03 ^a	21.87 $\pm$ 0.49 ^a
	8	43.54 $\pm$ 0.08 ^a	28.24 $\pm$ 0.04 ^a	23.30 $\pm$ 0.01 ^a	1.76 $\pm$ 0.02 ^a	56.46 $\pm$ 0.08 ^a	5.16 $\pm$ 0.02 ^b	81.70 $\pm$ 0.52 ^a	81.88 $\pm$ 0.26 ^a	19.99 $\pm$ 0.00 ^a
	11	44.30 $\pm$ 0.18 ^a	25.31 $\pm$ 0.13 ^b	24.69 $\pm$ 0.24 ^a	2.74 $\pm$ 0.12 ^b	55.70 $\pm$ 0.18 ^a	5.33 $\pm$ 0.02 ^b	84.22 $\pm$ 2.41 ^a	83.26 $\pm$ 0.84 ^b	17.54 $\pm$ 0.40 ^a
	14	43.32 $\pm$ 0.08 ^a	28.17 $\pm$ 0.15 ^a	22.56 $\pm$ 0.35 ^b	2.11 $\pm$ 0.25 ^a	56.68 $\pm$ 0.08 ^a	5.30 $\pm$ 0.01 ^b	82.59 $\pm$ 1.80 ^a	80.96 $\pm$ 0.03 ^a	19.90 $\pm$ 0.60 ^a
	17	44.91 $\pm$ 0.95 ^b	26.20 $\pm$ 0.53 ^b	22.69 $\pm$ 0.41 ^b	2.34 $\pm$ 0.06 ^a	55.09 $\pm$ 0.95 ^a	5.66 $\pm$ 0.05 ^a	82.32 $\pm$ 1.42 ^a	80.49 $\pm$ 0.94 ^a	19.48 $\pm$ 0.78 ^a
	DMS	1.85	1.09	1.11	0.48	1.85	0.238	6.25	2.5	2.2

¹Ángulo de tono expresado en grados.

Q: Quesería; TA: tiempo de almacenamiento en días; DMS: Diferencia mínima significativa.

Medias en filas con superíndices diferentes (a, b) fueron estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$)

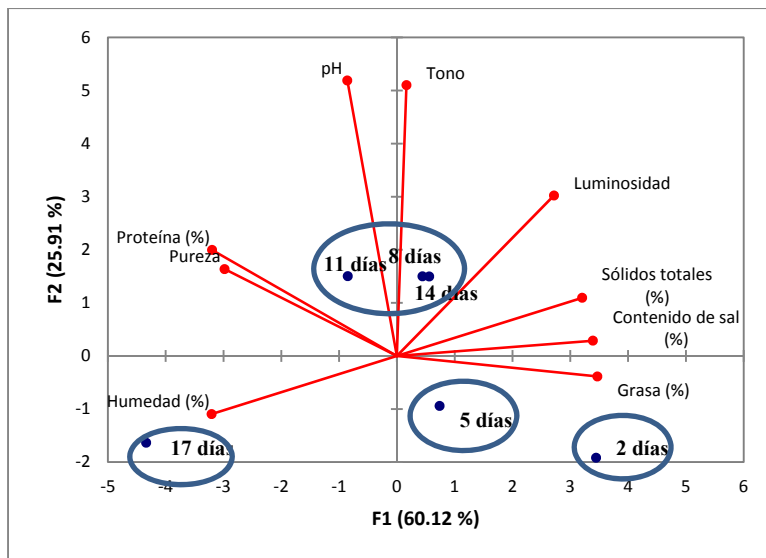
Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

Respecto a la variación de los componentes del color, únicamente se detectó diferencia estadística en el ángulo de tono. El valor del ángulo de tono encontrado en el Quesillo se aproxima a 90° , lo que se relaciona con la presencia de color amarillo, por lo que un aumento estadísticamente significativo en este atributo significa el desarrollo de un color más amarillo. Este fenómeno de amarillamiento fue más pronunciado en la quesería A, donde los valores de tono aumentaron de manera significativa a partir de los ocho días de almacenamiento, a excepción de la muestra con 17 días cuyo valor no fue estadísticamente diferente al encontrado en la muestra fresca. En la quesería B, la única muestra con un aumento estadísticamente significativo en el ángulo de tono se presentó a los 11 días de almacenamiento. Buffa *et al.* (2011) encontraron que el amarillamiento ocurrido durante la maduración de queso de cabra estuvo altamente correlacionado con el aumento del valor b^* , cuando no existió cambio en este atributo se observó que los quesos presentaron la misma estructura. En este sentido, el color de un material opaco, generalmente, es el resultado de la dispersión y la absorción de la luz visible (Chandan, 2008), por lo que una modificación de la estructura del queso, durante el almacenamiento podría estar relacionado con la percepción del tono en este alimento.

En la Figura 2 se observa representación biplot de las calificaciones y las cargas de las variables fisicoquímicas en el plano definido por las componentes principales 1 y 2 del Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, proveniente de la quesería A y B, durante un periodo de 17 días de almacenamiento. En la Figura 2 (a) se tiene que en la quesería A, el componente principal 1 explica el 65% de la variabilidad, mientras el componente 2 explica un 25.9%. Las muestras con 2 y 5 días de almacenamiento se caracterizaron por

su contenido de grasa. El grupo formado por las muestras con 8, 11 y 14 días se caracterizaron por valores de tono (color amarillo), luminosidad y pH.

a)



b)

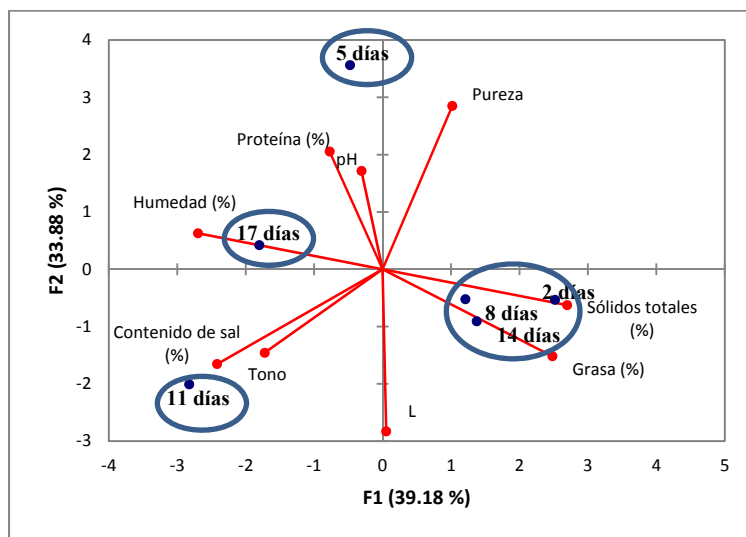


Figura 2. Biplot de calificaciones y cargas de las variables fisicoquímicas de Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca de la quesería A (a) y B (b), con diferentes días de almacenamiento en el plano definido por los componentes 1 y 2.

En la Figura 2 (b) se presenta el análisis correspondiente a la quesería B, en el cual se observa que el componente 1 explicó el 39.8 % de la variabilidad, mientras que el componente 2 explicó el 33.88 %. Las muestras con 2, 8 y 14 días de almacenamiento se

caracterizaron por la concentración de sólidos totales y de grasa, la de 5 días por un pH alto, su concentración de proteína y la pureza del color; y la de 11 días por el tono y el contenido de sal. En ambas queserías, la muestra con 17 días de almacenamiento se caracterizó por presentar el mayor porcentaje de humedad, lo que pudo deberse a que el quesillo se almacena dentro de bolsas de plástico que evitan la pérdida de humedad de la superficie. Finalmente, la no concordancia en la composición del Quesillo que caracterizó a las muestras pertenecientes a los diferentes intervalos de almacenamiento puede deberse a la variabilidad que existe durante la hechura de los quesos en cada quesería.

Debido a la artesanidad del proceso, no fue posible establecer, en algunos casos, si la variación en los parámetros fisicoquímicos (principalmente composición y pH) se debieron al tiempo de almacenamiento o a la heterogeneidad dentro del proceso de producción. En este sentido, la medición de algunos parámetros puede generar un producto con características más homogéneas dentro de la quesería, con la finalidad de satisfacer los estándares de calidad y expectativas sensoriales de los consumidores. Delahunty y Drake (2004) mencionan que lo que se busca no es encontrar queso sin defectos, sino más bien que se ofrezcan características únicas y atractivas de forma regular. El productor de quesos con las características sensoriales más aceptadas, será el que pueda asegurar que la presentación en el mercado de su queso corresponda a las características sensoriales esperadas.

3.2.2. Análisis sensorial de la intensidad de la hebrosidad

El panel sensorial entrenado definió la hebrosidad y asignaron las referencias correspondientes para llevar a cabo su medición (Cuadro 5).

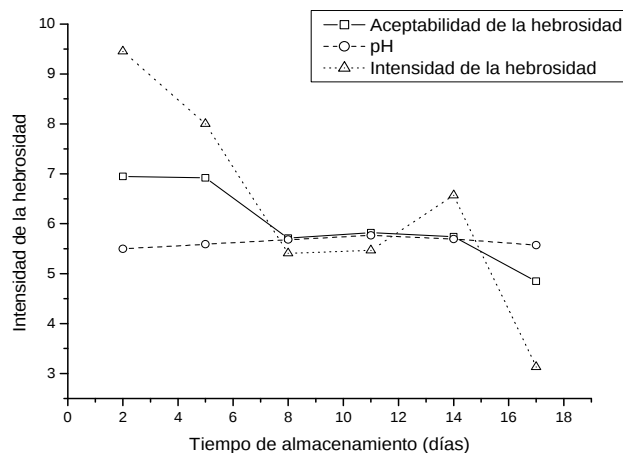
Cuadro 5. Descripción del atributo sensorial “hebrosidad” y referencias para la evaluación de Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca

Atributo	Descripción	Referencia	Intensidad
Hebrosidad	Capacidad de la pasta para formar hilos finos al desmenuzar el queso en dirección paralela a la correa.	Queso Oaxaca industrial marca La Esmeralda ^{MR}	2.3
		Queso Oaxaca comercial de marca libre, elaborado con leche cruda acidificada por fermentación natural hasta 28 °Dornic.	11.2

Fuente: Elaboración propia con dato experimentales.

En la Figura 3 (a) se observa la variación del pH, de la intensidad de la hebrosidad y de la aceptabilidad de este atributo en la quesería A. Los valores de la aceptabilidad de la hebrosidad se muestran en la sección 3.3. En dicha Figura se tiene que en la muestra fresca, la intensidad de la hebrosidad presentó el valor más alto, mismo que disminuyó de manera significativa a partir de los cinco días de almacenamiento. Por otro lado, en la quesería B se presentaron dos grupos de muestras cuya variación de pH y hebrosidad fue independientemente del tiempo de almacenamiento. El primero estuvo integrado por las muestras con 2, 5 y 17 días de almacenamiento, mismas que presentaron los valores más altos de pH y más bajos en la intensidad de la hebrosidad. El segundo bloque se integró por las muestras restantes que presentaron bajo pH y mayor hebrosidad (Figura 3 (b)). De esta manera pareciera que la variación de la hebrosidad en esta quesería estuvo más relacionada al efecto del pH de la pasta que con la proteólisis que ocurre en los quesos durante la maduración.

(a)



(b)

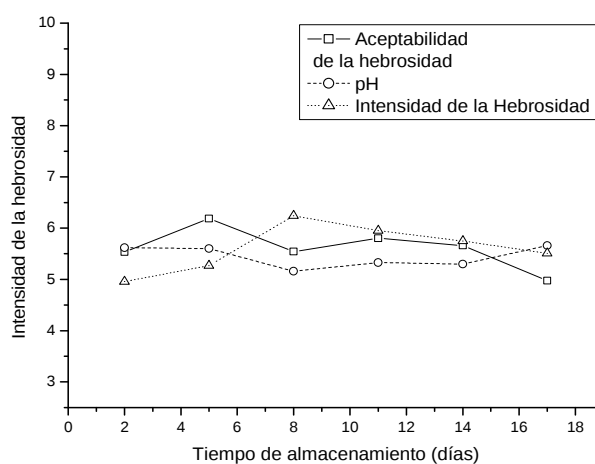


Figura 3. Variación del pH, de la intensidad de la hebrasidad y la aceptabilidad de la hebrasidad del Quesillo a través del tiempo de almacenamiento en la quesería A (a) y B (b).

En el Cuadro 6 se muestran los valores de la intensidad de la hebrasidad obtenida del panel sensorial entrenado, durante el periodo de almacenamiento. Al comparar la tendencia de los valores obtenidos de la hebrasidad del Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca, pareciera que en la quesería B, a diferencia de lo que ocurre en la quesería A, la intensidad de la hebrasidad aumenta, de manera estadísticamente significativa, en las

muestras con mayor tiempo de almacenamiento (muestras de 8, 11 y 14 días con respecto a las muestras con 2 y 5 días). Sin embargo, en ambas queserías, independientemente del tiempo de almacenamiento, se observó que a medida que el pH se incrementa, la intensidad de la hebrasidad disminuye. Debe notarse que en la quesería B, la intensidad de la hebrasidad fue menor a la encontrada en las muestras de la quesería A (de 9.45 a 3.13, contra 6.24 a 4.96), por lo que es posible que otras condiciones, además del pH, como el grado de desmineralización de la cuajada y la temperatura de amasado hayan influido en la textura del Quesillo (Ginee, 2003).

Cuadro 6. Variación de la hebrasidad de Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca, mantenido a 4 °C, de la quesería A y B durante el periodo de almacenamiento evaluado (promedio $\pm$ desviación estándar).

Tiempo de almacenamiento (días)	Quesería	
	A	B
2	9.45 $\pm$ 1.96 ^a	4.96 $\pm$ 2.02 ^a
5	8.00 $\pm$ 1.81 ^b	5.27 $\pm$ 1.63 ^a
8	5.41 $\pm$ 1.93 ^d	6.24 $\pm$ 1.84 ^b
11	5.47 $\pm$ 2.08 ^d	5.95 $\pm$ 2.16 ^b
14	6.57 $\pm$ 2.04 ^{cd}	5.75 $\pm$ 1.81 ^b
17	3.13 $\pm$ 1.13 ^d	5.51 $\pm$ 2.42 ^a
DMS	0.73	0.7905

DMS: Diferencia mínima significativa.

Medias en filas con superíndices diferentes (a, b) fueron estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$)

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

Lo encontrado concuerda con lo mencionado por Lucey y Fox (1993), y por Lucey *et al.*, (2003), quienes señalan que el valor óptimo de pH para el hilado está entre 5.1 y 5.4, por lo que un pH en la pasta por arriba y por debajo de este intervalo tiene efecto en la disminución de la estirabilidad. Por otro lado, debido a que hubo poca variación en los

valores de pH en las muestras de la quesería A durante el almacenamiento, es probable que además del pH en estas muestras se haya presentado el efecto de proteólisis. Lucey *et al.* (2003) señalan que las propiedades elásticas de un queso de pasta hilada tienden a disminuir con el tiempo debido a la proteólisis producida, principalmente, por la actividad de la plasmina.

En este sentido, al estudiar el proceso de elaboración del Quesillo en las queserías, se observó que existe variabilidad en las condiciones que se consideran adecuadas en la cuajada fermentada para realizar el amasado de la pasta, lo que se conoce como “punto”, lo que a su vez se relaciona con la temperatura de amasado. Además, la determinación del “punto” depende únicamente de la percepción de los maestros queseros y no de pruebas instrumentales. En este sentido, es importante considerar que en las queserías, la cuajada debe alcanzar las características adecuadas de pH y descalcificación, con la finalidad de lograr un proceso exitoso de amasado y de estiramiento, de no ser así, la presencia de poca hebrasidad ocurrirá aun en las muestras frescas.

3.3. Pruebas de aceptación por consumidores

Los atributos obtenidos por el grupo focal incluyeron aspectos de apariencia, olor, textura, color, sabor y la capacidad para fundir. De los atributos propuestos por el grupo, únicamente se retomaron aquellos que pueden evaluarse sensorialmente al momento de la compra, por lo que se descartaron aspectos como la fundibilidad del Quesillo. En el Cuadro 7 se presentan los atributos que se evaluaron en la prueba de aceptabilidad, así como la descripción de cada uno de ellos. Es importante mencionar que al momento de realizar las pruebas, se le explicó a los panelistas el significado de cada uno de ellos así como la manera de evaluarlos.

Cuadro 7. Descriptores sensoriales para la evaluación de la aceptabilidad por atributos del Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca, obtenidos de un grupo focal.

Atributo	Descripción
Aroma general	Sensación agradable al oler el queso. Se refiere a notas positivas. Cada muestra se evaluó de manera independiente colocando la muestra en un plato sobre la mesa antes de olerla.
Olor general	Sensación desagradable al oler el queso. Se refiere a notas negativas. Cada muestra se evaluó de manera independiente colocando la muestra en un plato sobre la mesa antes de olerla.
Adhesividad al tacto	El queso se colocó entre los dedos y se percibió como la dificultad para separarlo de ellos.
Humedad al tacto	Sensación relacionada con el grado de humedad o sequedad percibida al colocar el quesillo entre los dedos.
Textura masosa	La hebra pierde su identidad al ser presionada entre los dedos tornándose en una pasta blanda y moldeable.
Hebrosidad	Capacidad de la pasta para formar hilos finos al desmenuzar el queso en dirección paralela a la correa. El quesillo se tomó de los extremos y se aplicó una fuerza paralela a la hebra para observar la formación de hilos.
Color amarillo	El grado de presencia del tono amarillo del espectro visible.
Sabor amargo	Uno de los gustos básicos, como el producido por el café
Contenido de sal	Uno de los gustos básicos, como el producido por la sal común.

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales

3.3.1. Resultados de las pruebas de aceptabilidad global y por atributos

Los resultados de la prueba de aceptabilidad global y por atributos del Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca, de las queserías A y B, con diferente tiempo de almacenamiento se presentan en el Cuadro 8. En este se observa que en la quesería A, la primera disminución estadísticamente significativa en la aceptabilidad global ocurrió a los 11 días de almacenamiento, tres días antes del límite inferior de la vida sensorial de anaquel, obtenida del análisis de supervivencia. La calificación en la escala pasó de “me gusta poco” a “ni me gusta, ni me disgusta”. La aceptabilidad por atributos (a excepción

del aroma y de la adhesividad al tacto) y la global mostraron una disminución a lo largo del periodo comprendido entre los 2 y 11 días de almacenamiento. En el día 14 se presentó un aumento en la aceptabilidad de los atributos de color amarillo, humedad al tacto, sabor amargo, contenido de sal y en la aceptabilidad global, pero después volvió a disminuir en la muestra del día 17. Esto puede deberse a que no existe una estandarización en el proceso de hechura, por lo que muestras de Quesillo provenientes de lotes con diferentes fechas de elaboración pueden presentar diferencias sensoriales independientemente del tiempo de almacenamiento.

En la quesería B, la aceptabilidad por atributos y la global disminuyeron a lo largo del periodo de almacenamiento. Únicamente los atributos de adhesividad al tacto y textura masosa no presentaron diferencia estadística. La primera disminución estadísticamente significativa en la aceptabilidad global se dio en el Quesillo con 8 días de almacenamiento, 6 días antes del término de la vida sensorial de anaquel obtenido del análisis de supervivencia. La muestra pasó de “me gusta poco” a “ni me gusta, ni me disgusta”. Para esta fecha la aceptabilidad del aroma, el olor, el sabor amargo, y el contenido de sal mostraron una disminución estadísticamente significativa con respecto a la muestra fresca.

Cuadro 8. Valores de la aceptabilidad global y por atributos de Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca, mantenido a 4 °C, de las queserías A y B, durante el tiempo de almacenamiento (promedio $\pm$ desviación estándar).

Q	TA	Aroma	Olor	Color amarillo	Adhesividad al tacto	Humedad al tacto	Hebrosidad	Textura masosa	Sabor amargo	Contenido de sal	Aceptación global
A	2	5.96 $\pm$ 1.56 ^a	5.79 $\pm$ 1.74 ^a	6.50 $\pm$ 1.68 ^a	6.02 $\pm$ 1.64 ^a	5.92 $\pm$ 1.68 ^a	6.95 $\pm$ 1.68 ^a	6.03 $\pm$ 1.75 ^a	6.23 $\pm$ 1.86 ^a	6.41 $\pm$ 1.72 ^a	6.35 $\pm$ 1.77 ^a
	5	6.11 $\pm$ 1.64 ^a	5.58 $\pm$ 1.62 ^a	6.29 $\pm$ 1.55 ^a	5.94 $\pm$ 1.58 ^a	5.94 $\pm$ 1.55 ^a	6.92 $\pm$ 1.52 ^a	5.97 $\pm$ 1.72 ^a	6.34 $\pm$ 1.84 ^a	6.35 $\pm$ 1.63 ^a	6.58 $\pm$ 1.56 ^a
	8	6.05 $\pm$ 1.61 ^a	5.63 $\pm$ 1.68 ^a	5.65 $\pm$ 1.66 ^b	5.91 $\pm$ 1.59 ^a	5.95 $\pm$ 1.50 ^a	5.71 $\pm$ 1.77 ^b	5.81 $\pm$ 1.73 ^a	6.33 $\pm$ 1.61 ^a	6.47 $\pm$ 1.69 ^a	6.38 $\pm$ 1.63 ^a
	11	5.98 $\pm$ 1.85 ^a	5.46 $\pm$ 1.92 ^a	5.66 $\pm$ 1.70 ^b	5.75 $\pm$ 1.61 ^a	5.50 $\pm$ 1.71 ^b	5.82 $\pm$ 1.83 ^b	5.51 $\pm$ 1.87 ^b	5.74 $\pm$ 1.89 ^b	5.90 $\pm$ 2.01 ^b	5.82 $\pm$ 1.71 ^b
	14	6.10 $\pm$ 1.44 ^a	5.59 $\pm$ 1.82 ^a	6.12 $\pm$ 1.56 ^a	5.79 $\pm$ 1.63 ^a	5.93 $\pm$ 1.63 ^a	5.74 $\pm$ 1.79 ^b	5.80 $\pm$ 1.85 ^a	6.44 $\pm$ 1.72 ^a	6.49 $\pm$ 1.59 ^a	6.34 $\pm$ 1.58 ^a
	17	5.73 $\pm$ 1.84 ^a	5.29 $\pm$ 1.75 ^b	5.47 $\pm$ 1.79 ^b	5.72 $\pm$ 1.60 ^a	5.68 $\pm$ 1.57 ^a	4.85 $\pm$ 1.98 ^{bc}	5.02 $\pm$ 1.90 ^b	4.97 $\pm$ 2.11 ^b	5.89 $\pm$ 2.06 ^b	5.27 $\pm$ 2.01 ^b
	DMS	0.3744	0.3647	0.395	0.3298	0.3464	0.4058	0.3839	0.3968	0.3998	0.4166
B	2	6.34 $\pm$ 1.66 ^a	5.97 $\pm$ 1.75 ^a	6.36 $\pm$ 1.49 ^a	5.50 $\pm$ 1.87 ^a	5.60 $\pm$ 1.68 ^a	5.54 $\pm$ 1.93 ^a	5.58 $\pm$ 1.78 ^a	6.13 $\pm$ 1.89 ^a	6.63 $\pm$ 1.72 ^a	6.58 $\pm$ 1.85 ^a
	5	6.00 $\pm$ 1.70 ^a	5.67 $\pm$ 1.60 ^a	6.05 $\pm$ 1.42 ^a	5.62 $\pm$ 1.69 ^a	5.68 $\pm$ 1.61 ^a	6.19 $\pm$ 1.74 ^b	5.83 $\pm$ 1.72 ^a	6.16 $\pm$ 1.91 ^a	6.56 $\pm$ 1.63 ^a	6.59 $\pm$ 1.50 ^a
	8	5.41 $\pm$ 1.84 ^b	5.24 $\pm$ 1.75 ^b	6.04 $\pm$ 1.55 ^a	5.79 $\pm$ 1.59 ^a	5.80 $\pm$ 1.61 ^a	5.54 $\pm$ 1.91 ^a	5.68 $\pm$ 1.69 ^a	5.50 $\pm$ 1.99 ^b	5.91 $\pm$ 1.83 ^b	5.65 $\pm$ 2.08 ^b
	11	5.96 $\pm$ 1.76 ^a	5.63 $\pm$ 1.81 ^a	6.08 $\pm$ 1.85 ^a	5.50 $\pm$ 1.86 ^a	5.68 $\pm$ 1.65 ^a	5.80 $\pm$ 2.12 ^a	5.58 $\pm$ 1.81 ^a	5.16 $\pm$ 2.02 ^b	5.13 $\pm$ 2.20 ^b	5.31 $\pm$ 2.02 ^b
	14	5.34 $\pm$ 2.00 ^b	4.92 $\pm$ 1.93 ^b	5.84 $\pm$ 1.66 ^b	5.65 $\pm$ 1.77 ^a	5.96 $\pm$ 1.54 ^b	5.66 $\pm$ 1.95 ^a	5.69 $\pm$ 1.67 ^a	5.22 $\pm$ 2.11 ^b	5.91 $\pm$ 1.80 ^b	5.50 $\pm$ 1.94 ^b
	17	5.97 $\pm$ 1.79 ^a	5.62 $\pm$ 1.75 ^a	5.62 $\pm$ 1.61 ^b	5.82 $\pm$ 1.71 ^a	6.27 $\pm$ 1.47 ^b	4.97 $\pm$ 1.91 ^b	5.53 $\pm$ 1.77 ^a	5.80 $\pm$ 1.94 ^b	6.01 $\pm$ 1.85 ^b	5.65 $\pm$ 1.79 ^b
	DMS	0.4	0.4	0.38	0.35	0.36	0.46	0.4	0.45	0.42	0.44

Medias en filas con superíndices diferentes (a, b) fueron estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$).

Q: Quesería; TA: Tiempo de almacenamiento en días; DMS Diferencia mínima significativa.

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

Con los datos obtenidos de las pruebas de aceptabilidad global y por atributos se elaboró un mapa de preferencia externo para el Quesillo proveniente de cada quesería evaluada. El mapa de la Figura 4 corresponde a lo encontrado en la quesería A, en el cual se tiene que el componente principal 1 explica el 79.46 % de la variabilidad mientras que el componente 2 explica el 9.49 %. Las muestras más aceptadas son las correspondientes al día 2, 5, 8 y 14. La preferencia global se puede explicar con la aceptabilidad de la textura masosa y del sabor amargo. Las muestras correspondientes al día 11 y 17 fueron las menos aceptadas en todos los atributos. Las muestras de los días 2 y 5 de almacenamiento presentaron la mayor aceptabilidad en la hebrasidad, el color amarillo y la adhesividad al tacto. Las muestras de los días 2 y 5 de almacenamiento presentaron la mayor aceptabilidad en la hebrasidad, el color amarillo y la adhesividad al tacto.

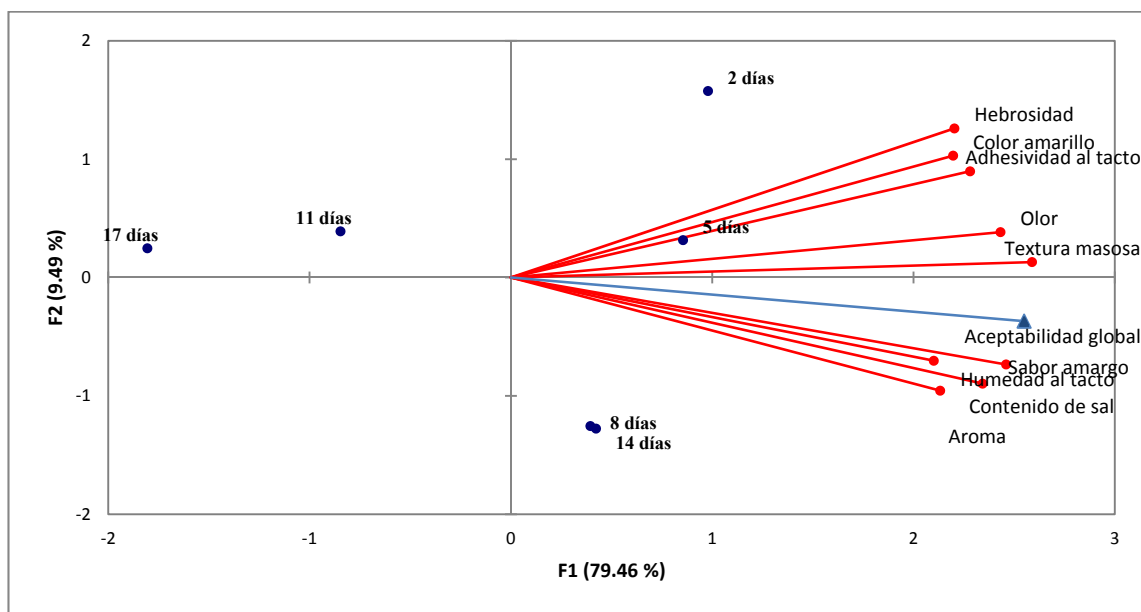


Figura 4. Mapa de preferencia externo de las muestras de Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, almacenado a 4 °C, obtenido de la quesería A, donde se muestran las calificaciones (muestras y cargas) de los días de almacenamiento respecto a las variables de la aceptabilidad por atributos.

En la Figura 5 se presenta el mapa de preferencia externa de las muestras de Quesillo, de la quesería B, evaluadas durante la vida sensorial de anaquel. En éste, el componente principal 1 explica el 48.35 %, de la variabilidad mientras que el componente 2 explica el 24.6 %. Las muestras más aceptadas son las correspondientes al día 2 y 5. La aceptabilidad global se puede explicar con la aceptabilidad del contenido de sal, el aroma, el olor, sabor amargo y el color amarillo. La muestra con 2 días de almacenamiento se caracterizó por su alta aceptabilidad en los atributos de contenido de sal, aroma, y olor; la de 5 días en la hebrasidad, la textura masosa y el color amarillo. Las muestras correspondientes al día 8, 11 y 14 se caracterizaron por una alta aceptabilidad en la textura masosa y la hebrasidad; la muestra de 17 días se caracterizó por la mayor preferencia en la adhesividad y en la humedad al tacto.

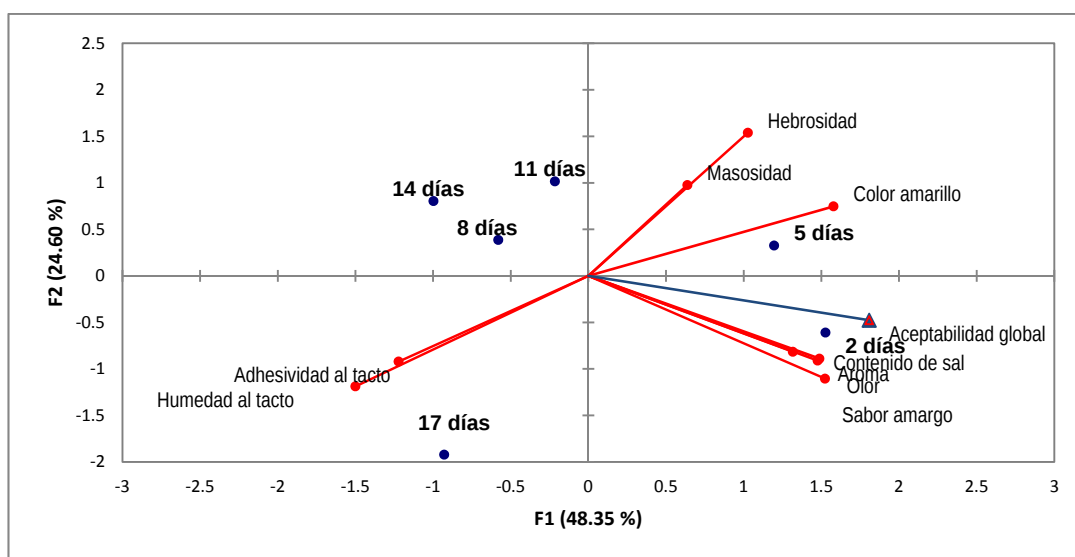


Figura 5. Mapa de preferencia externo de las muestras de Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, almacenado a 4 °C, obtenido de la quesería B, donde se muestran las calificaciones (muestras y cargas) de los días de almacenamiento respecto a las variables de la aceptabilidad por atributos.

Al analizar los datos obtenidos del análisis de supervivencia y del cambio en la aceptabilidad global por los consumidores se confirma que el Quesillo puede clasificarse

dentro de los quesos frescos. Mediante el análisis de supervivencia se estimó que el 50% de probabilidad de rechazo del consumo de Quesillo, mantenido bajo condiciones de frío, por los consumidores fue de 14 días, esto independientemente de la quesería evaluada. No obstante, la primera disminución significativa en la aceptabilidad global del producto ocurrió entre los 8 y 11 días de almacenamiento, dependiendo de las condiciones de elaboración dentro de cada quesería. Al comparar estos resultados es posible observar que el consumidor está dispuesto a aceptar cierta disminución en la aceptabilidad del producto sin rechazar su compra o consumo.

3.4. Análisis de penalización del promedio de la aceptabilidad global

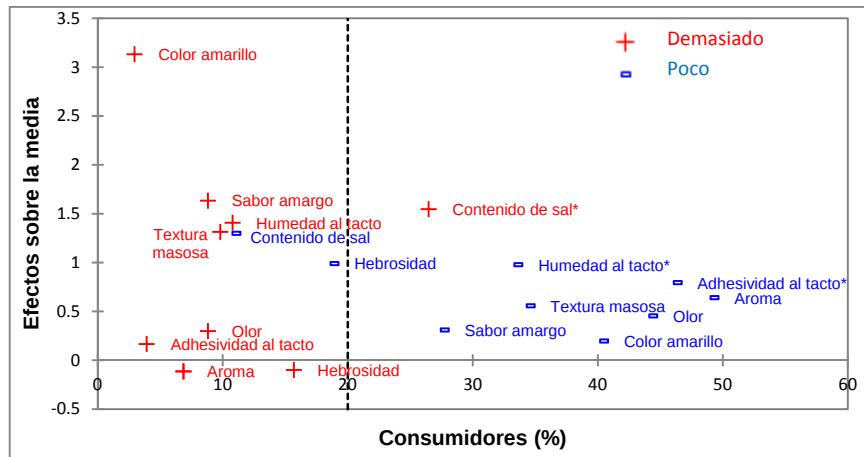
La utilización de la escala JAR (just-about-right) y el análisis de penalización del promedio de la aceptabilidad global permitió conocer cuáles atributos, y el nivel de intensidad de los mismos, que contribuyeron a la reducción de la aceptabilidad global del Quesillo durante el almacenamiento. Para el análisis de penalización del promedio de la aceptabilidad global se consideraron importantes los atributos que presentaron diferencia estadística entre el nivel adecuado y no adecuado, pudiendo estar por arriba o por debajo del nivel esperado del atributo. También se consideraron importantes aquéllos atributos que tuvieron una alta frecuencia de menciones, que en el mapa aparece como porcentaje de consumidores, y que además generaron una disminución importante de la aceptabilidad global, lo que aparece en las gráficas como efecto sobre la media. En estos mapas, el efecto sobre la media positivo significa una reducción de la aceptabilidad debido al atributo, mientras que los efectos con valores negativos generaron un aumento en la aceptabilidad global. En el Anexo 3 se encuentra el Cuadro del análisis de penalización de la aceptabilidad global, obtenido de la prueba de t

para dos muestras, del total de los atributos en cada uno de los días evaluados durante la vida sensorial de anaquel, para ambas queserías.

A continuación se presenta el análisis de penalización del promedio de la aceptabilidad global del Quesillo, proveniente de la quesería A y B, con 2, 14, y 17 días de almacenamiento. Los días antes mencionados correspondieron a la muestra fresca, a la fecha obtenida como término de la vida sensorial de anaquel, y al periodo máximo de almacenamiento considerado en este estudio, respectivamente. Además, se presenta el análisis de la muestra que presentó la primera disminución estadística en la aceptabilidad global.

En la Figura 6 se presenta el mapa de penalización de la aceptabilidad global de la muestra con 2 días de almacenamiento, en el que se observa que la aceptación global disminuyó por considerar al Quesillo fresco, proveniente de ambas queserías, con poca humedad y con poca adhesividad al tacto. Además, la muestra de la quesería A (Figura 6 (a)) se consideró con demasiado contenido de sal y poco aroma; mientras que el Quesillo de la quesería B (Figura 6 (b)) se percibió con poca hebrasidad y con poca textura masosa. La poca hebrasidad percibida por el panel entrenado en la muestra con 2 días de almacenamiento, en la quesería B, también fue percibida y penalizada por los consumidores. El contenido de sal penalizado por percibirse por arriba de lo esperado en la quesería A correspondió a la muestra que presentó el mayor porcentaje de sal (1.62 %), aun cuando no se presentó diferencia estadística entre las fechas evaluadas. En la quesería B, el contenido de sal de la muestra fresca fue ligeramente superior a la encontrada en la quesería A, sin embargo no se penalizó, lo que puede deberse a que en esa quesería el porcentaje de sal fue superior, presentando valores desde 1.76 hasta 2.74.

(a)



(b)

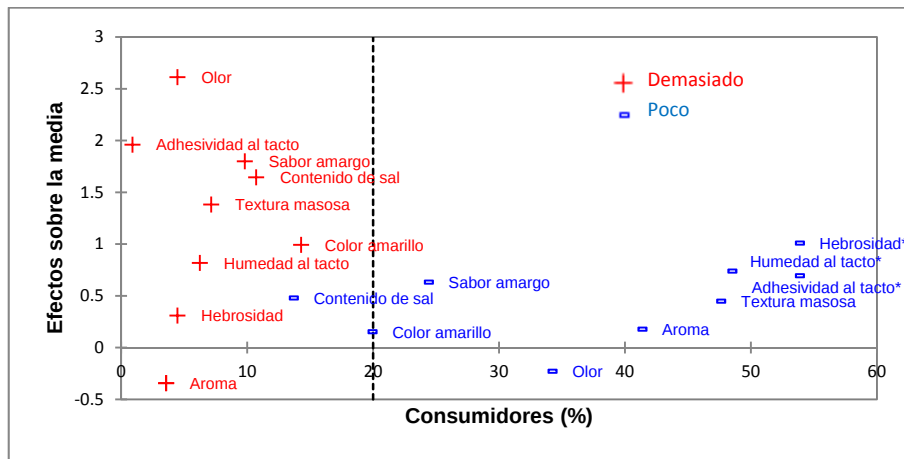


Figura 6. Mapa de análisis de penalización de la aceptabilidad global debida a los atributos de aroma, olor, color amarillo, adhesividad al tacto, humedad al tacto, hebrósidad, textura masosa, sabor amargo, y contenido de sal, en el Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca de la quesería A (a) y B (b) con 2 días de almacenamiento. El asterisco (*) indica diferencia entre el nivel obtenido y el esperado.

La primera disminución estadística en la aceptabilidad global se dio a los 11 y 8 días de almacenamiento, en la quesería A y B, respectivamente. En la Figura 7 se observa el mapa de penalización de la aceptabilidad global de las muestras de dichos días de almacenamiento en los que se tiene que, independientemente de la quesería, los atributos que se penalizaron cuando existió dicha diferencia estadística fueron el poco contenido de sal y la textura poco masosa. Además, en la muestra de la quesería B, con 8 días de almacenamiento, se detectó un sabor demasiado amargo y se percibió como poco

adhesiva; mientras que en el Quesillo de la quesería B, con 11 días de almacenamiento, se rechazó el desarrollo de un color demasiado amarillo. En ambas queserías se encontró que más del 50 % de los consumidores consideraron que la hebrasidad del Quesillo fue menor a la esperada, sin embargo esto tuvo poco efecto en la disminución de la aceptabilidad global. En la quesería B, la muestra fue considerada con sabor demasiado amargo, ya que el porcentaje de consumidores que lo percibió de esta manera fue mayor del 20 % de los consumidores indicado, esto fue importante debido que generó una disminución de la media de la aceptabilidad global de casi 2 unidades de la escala.

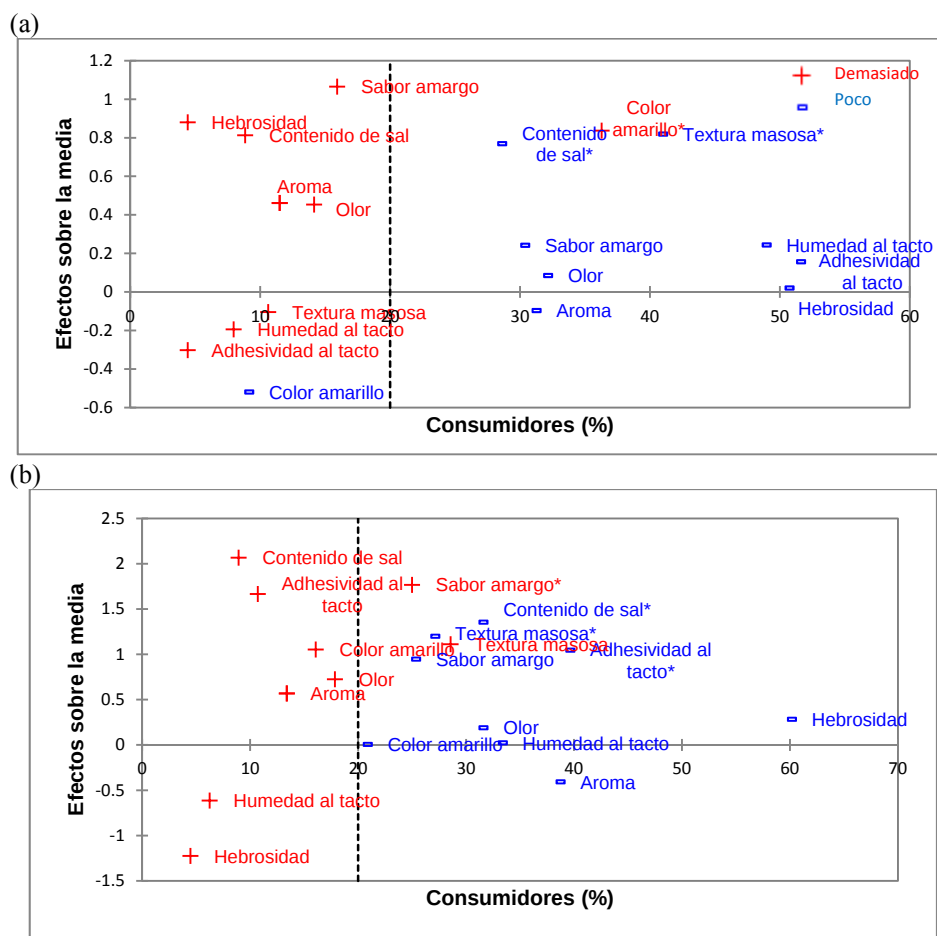


Figura 7. Mapa de análisis de penalización de la aceptabilidad global debida a los atributos de aroma, olor, color amarillo, adhesividad al tacto, humedad al tacto, hebrasidad, textura masosa, sabor amargo, y contenido de sal, en el Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca de la quesería A (a), con 11 días de almacenamiento, y B (b), con 8 días de almacenamiento. El asterisco (*) indica diferencia entre el nivel obtenido y el esperado.

En la Figura 8 se presenta el mapa de análisis de penalización de la aceptabilidad global en la muestra con 14 días de almacenamiento, correspondiente a la fecha de término de la vida sensorial de anaquel obtenida del análisis de supervivencia. En dicho análisis se tiene que la poca adhesividad al tacto fue el único atributo que se penalizó en ambas queserías, este atributo presentó diferencia estadística con respecto al nivel esperado en la quesería A, mientras que en la quesería B tuvo una alta frecuencia y efecto sobre la media. Por otra parte, el quesillo de la quesería A se consideró como demasiado amarillo y con poca humedad al tacto. Mientras que en la quesería B se penalizó un alto contenido de sal, una textura demasiado masosa, y la presencia de sabor demasiado amargo. En ambas queserías más del 50 % de los consumidores consideraron que la muestra tuvo poca hebrasidad, sin embargo esto tuvo poco efecto sobre el promedio de la aceptabilidad global.

El poco efecto de la hebrasidad en la disminución aceptabilidad global del Quesillo no correspondió con lo esperado, ya que se supuso que la disminución de la intensidad de este parámetro sería altamente penalizado por el consumidor. Lo anterior, debido a que la presencia de hebra es una característica que permite diferenciar a los quesos de pasta filata de otros tipos de queso. Esto sugiere que aunque un alto número de consumidores ($> 50\%$) detecta una presencia de hebra menor a la esperada, este atributo no genera una disminución importante en la aceptabilidad del Quesillo.

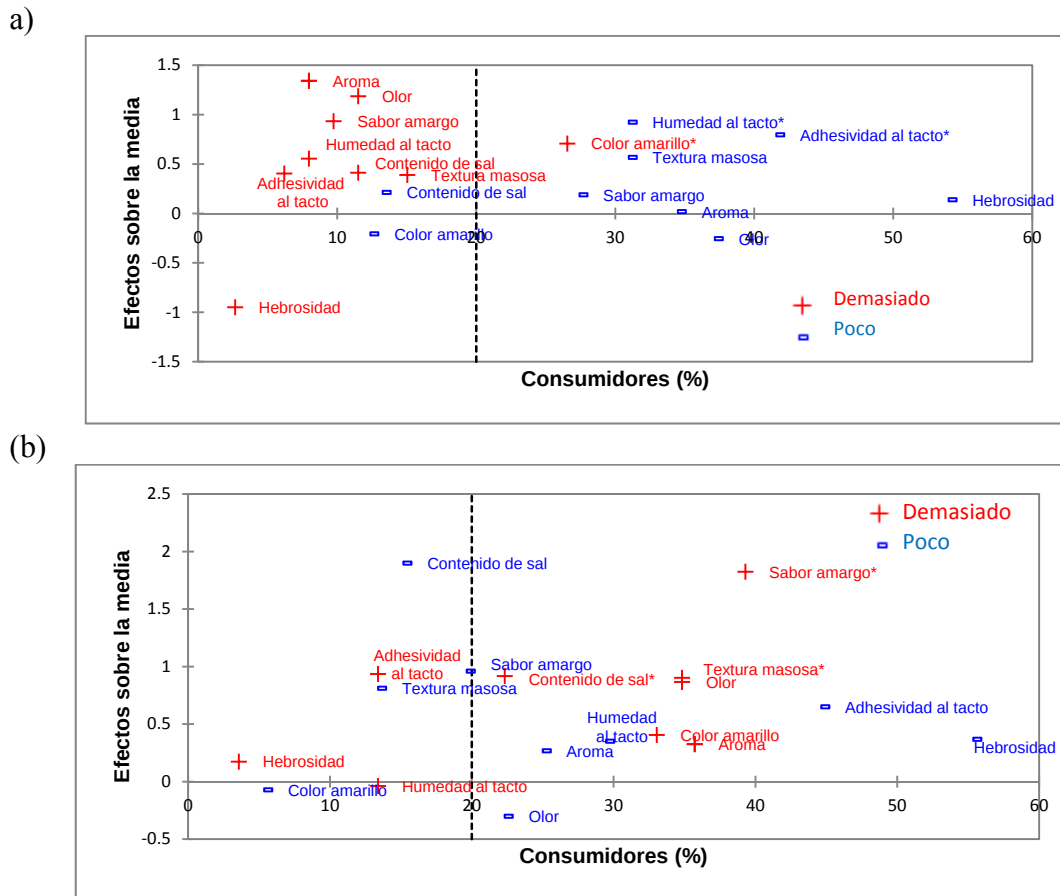
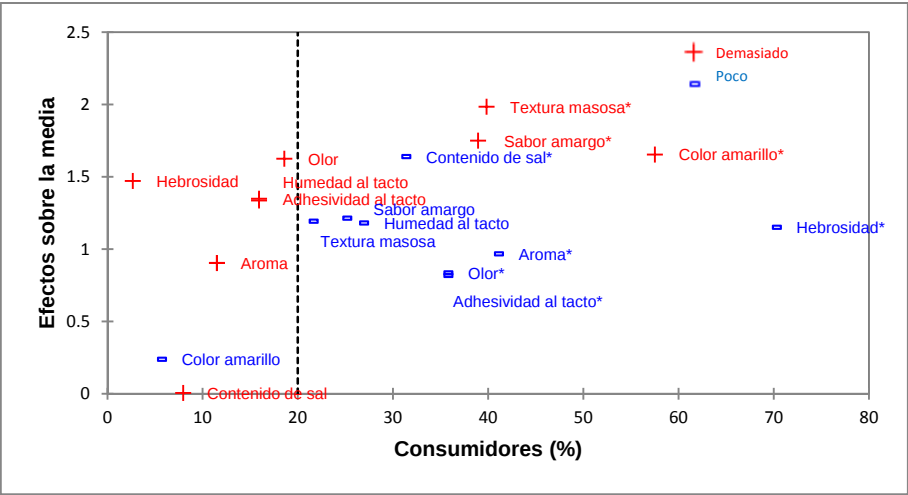


Figura 8. Mapa de análisis de penalización de la aceptabilidad global debida a los atributos de aroma, olor, color amarillo, adhesividad al tacto, humedad al tacto, hebrosidad, textura masosa, sabor amargo, y contenido de sal, en el Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca de la quesería A (a) y B (b) con 14 días de almacenamiento. El asterisco (*) indica diferencia entre el nivel obtenido y el esperado.

En la Figura 9 se muestra el mapa de análisis de la aceptabilidad global de la muestra con 17 días de almacenamiento. En este se tiene que en la quesería A, la diferencia entre lo considerado como adecuado y lo no adecuado fue estadísticamente diferente en todos los atributos evaluados para la muestra del día 17. Para este periodo de almacenamiento, se consideró al Quesillo con poco aroma y olor, demasiado color amarillo, poca adhesividad al tacto, poca humedad al tacto, con poca hebrosidad, demasiado masoso, demasiado amargo y con poco contenido de sal. En la quesería B se percibieron menos defectos en la muestra correspondiente a la última fecha evaluada. En este Quesillo, los

atributos con diferencia estadística fueron el elevado contenido de sal y la textura demasiado masosa. Además, la poca adhesividad al tacto y el color demasiado amarillo presentaron una alta frecuencia, aunque con poco efecto sobre el promedio de la aceptabilidad global.

(a)



(b)

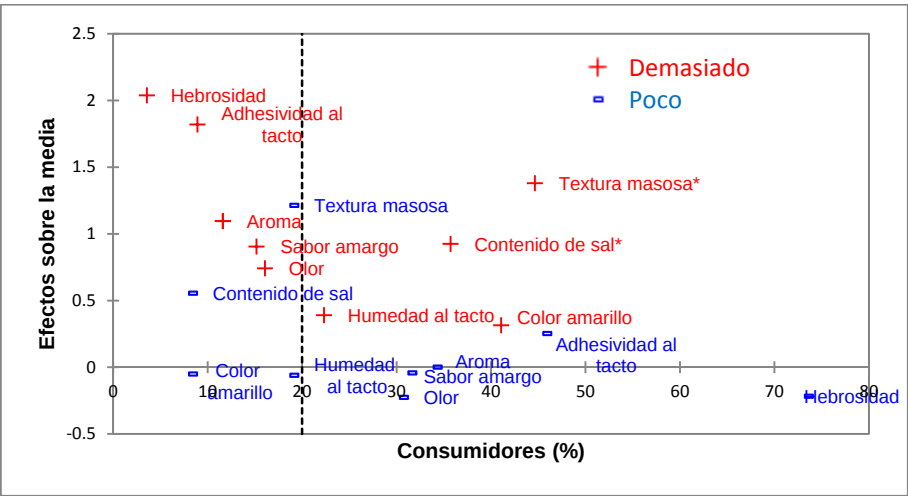


Figura 9. Mapa de análisis de penalización de la aceptabilidad global debida a los atributos de aroma, olor, color amarillo, adhesividad al tacto, humedad al tacto, hebrosidad, textura masosa, sabor amargo, y contenido de sal, en el Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca de la quesería A (a) y B (b) con 17 días de almacenamiento. El asterisco (*) indica diferencia entre el nivel obtenido y el esperado.

Cabe señalar que se encontró correspondencia entre los resultados obtenidos de la escala JAR y los datos de color instrumental y de intensidad de hebrasidad. En la quesería A, la primera disminución estadística de la aceptabilidad de la hebrasidad ocurrió a los 8 días de almacenamiento, en esta fecha el atributo se percibió por debajo de lo esperado. Esto coincidió con una reducción de 4 unidades de la hebrasidad calificada por el panel sensorial entrenado, misma que fue mayor a la primera disminución estadística que ocurrió a los 5 días de almacenamiento (pasando de 9.45 a 8.00). Esto indicaría que, o bien los consumidores no son capaces de percibir esa diferencia, o estuvieron dispuestos a permitir cierto nivel de diferencia sin que disminuyera la aceptabilidad de ese atributo. La aceptabilidad del color amarillo también disminuyó, de manera estadísticamente significativa, a los 8 días de almacenamiento, en esta fecha el atributo se percibió por arriba de lo esperado y coincide con el primer aumento significativo en el tono, obtenido de la medición instrumental, lo que significa que el color tiende al amarillo.

Las muestras más aceptadas en el atributo de contenido de sal fueron aquellas cuyos porcentajes estuvieron entre 1.48 y 2.34, a pesar de que la percepción de ellas estuvo por arriba y por debajo de lo esperado. Al analizar el efecto del contenido de sal en la aceptabilidad global del Quesillo se tuvo que para el consumidor fue importante tanto la presencia de un bajo contenido de sal, cuya muestra con la mayor penalización fue la que presentó 1.26 % (con una penalización de 0.5), como el efecto de un alto contenido de sal, que fue más penalizado y ocurrió en la muestra con un porcentaje de sal de 2.74 (con una penalización de 0.71).

Por otro lado, el análisis de los parámetros con diferencia estadística entre el nivel adecuado, o JAR (Just – About – Right), y no adecuado, para la totalidad de las muestras almacenadas de ambas queserías, revela que la aceptabilidad del Quesillo disminuye cuando se presenta poca adhesividad al tacto, poca humedad al tacto, color demasiado amarillo, poca hebrasidad, sabor demasiado amargo, textura demasiado masosa y por el contenido de sal. De manera particular, las características del Quesillo antes mencionadas, a excepción de la poca hebrasidad, estuvieron relacionadas con el término de la vida sensorial de anaquel obtenido del análisis de supervivencia, debido a que estuvieron presentes y se penalizaron en la muestra con 14 días de almacenamiento.

Se clasifica al Quesillo, al igual que el queso Oaxaca y Mozzarella, como un queso de pasta blanda en el que se espera un alto nivel de humedad (de hasta el 60 %), lo que se relaciona directamente con la blandura y la adhesividad. En este sentido, el término “queso blando” denota una consistencia suave al tacto, o a la presión aplicada entre los dedos, por lo que puede relacionarse con el atributo de textura masosa (Farkye y Vedamuthu, 2002; Fox y McSeeney, 2004). Esto explicaría la razón por la que se penalizó frecuentemente a los quesos que se consideraron secos (poca humedad al tacto), duros (con poca textura masosa, tal vez relacionándosele con la blandura) y poco adhesivos (tal vez relacionándose con la resequedad).

El desarrollo de color demasiado amarillo se consideró como indeseable, lo que es muy importante debido a la asociación que existe entre la intensidad del color y la intensidad de la percepción de otros atributos sensoriales en queso por los consumidores, por ejemplo, a más intensidad de color mayor sabor (Delahunty y Drake, 2004). Wadhwani y McMahon (2012) encontraron que la aceptación global de queso Cheddar

reducido en grasa se penalizó cuando el color se percibió por arriba y por debajo de lo esperado por el consumidor, aun cuando la variación de los tratamientos consistió únicamente en el cambio de color (diferentes niveles de anato y dióxido de titanio).

La presencia de aroma y el desarrollo de olor fueron poco importantes en este queso. Generalmente se reconoce que el aroma de los quesos está en la fracción volátil, y el sabor está principalmente en la fase acuosa. Se ha identificado una gran variedad de componentes potencialmente sápidos y/o aromáticos en las diferentes variedades de quesos. Estos incluyen péptidos pequeños (200 o más), aminoácidos y más de 200 componentes volátiles (ácidos grasos, otros ácidos, carbonilos, aminas, componentes azufrados, etc.) (Fox *et al.*, 2000). Particularmente, algunos componentes que se relacionan con el aroma de los quesos son el diacetilo (2,3-butanediona) y la acetoina (3-hidroxi-2-butanona) que son productos del metabolismo del citrato por bacterias, como *Lactococcus lactis* spp. *lactis* bv. *diacetylactis*, *Leuconostoc* spp. o algunas especies de *Lactobacillus* (Beuvier y Buchin, 2004).

Respecto al sabor amargo, Fox *et al.* (2000) mencionan que es probablemente el principal defecto en el sabor en queso. En el Quesillo el desarrollo de este sabor fue altamente penalizado (en un intervalo de 0.44 a 0.72), por lo que su presencia con demasiada intensidad, percibida por los consumidores según lo obtenido de la escala JAR, disminuye de forma importante la aceptabilidad global. Este atributo se penalizó en ambas queserías, la presencia de un nivel alto de este atributo fue más frecuente en las muestras de la quesería B, penalizándose constantemente del día 8 al día 14; mientras que en la quesería A, únicamente se penalizó en la muestra del día 17.

El amargor es una sensación de sabor que se percibe en la parte de atrás de la lengua; no debe confundirse con la astringencia o acidez. El defecto de sabor amargo resulta, principalmente, de una acumulación excesiva de péptidos hidrofóbicos que no se degradan hasta aminoácidos libres. Estos se derivan de la proteólisis de las caseínas, particularmente de la región hidrofóbica C-terminal de la β -caseína, por enzimas de la coagulación o por actividad insuficiente de las peptidasas de los cultivos iniciadores, así como por efecto de microorganismos contaminantes con actividad proteolítica, principalmente flora psicrótrofa (v.g. *Pseudomonas* spp.), enterococos y algunas especies de *Bacillus* spp. (Cogan y Berestford, 2002; Farkye y Vedamuthu, 2002; McSweeney, 2002; Tamime, 2002). Algunas estrategias para disminuir el amargor en queso son el cambio de coagulante, el uso de cultivos iniciadores con alta actividad peptidasa y asegurar un nivel adecuado de sal en el queso (McSweeney, 2002).

La variabilidad en el contenido de sal es importante pues, además de la relación directa entre el nivel de sal y la percepción del sabor salado, es importante por su relación con la textura; por ejemplo, un incremento de 0.24 a 2.40 % en queso mozzarella causó un incremento en la firmeza sensorial, que también fue detectado instrumentalmente; también se ha detectado que el sabor amargo se desarrolla en quesos con bajo nivel de sal (Gunasekaran y Mehmet, 2003; Cogan y Berestford, 2002).

4. CONCLUSIONES

La vida sensorial de anaquel evaluada empleando análisis de supervivencia para Quesillo, mantenido bajo condiciones de refrigeración (4°C), es de 14 días. Después, es probable que la mitad de los consumidores rechace el producto. La decisión de compra y de consumo del Quesillo por los consumidores toma en cuenta las características de aroma, adhesividad al tacto, humedad al tacto, textura masosa, la presencia de hebra (hebrósidad), el color, el desarrollo de sabor amargo y el contenido de sal.

Los consumidores rechazan al Quesillo cuando presenta una disminución importante de su hebrósidad; entonces se genera una textura demasiado masosa y poco húmeda, así como el desarrollo de un sabor demasiado amargo; también, un alto contenido de sal y el aumento de color amarillo son objetables. Sin embargo, los consumidores esperan cierto nivel de humedad y blandura. El nivel de sal esperado por los consumidores está entre 1.5 y 2.3 %; niveles más altos o más bajos son penalizados en aceptabilidad.

El estudio de la vida sensorial de anaquel del Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, centrado en la aceptación de los consumidores, y no en el deterioro del producto, permitió determinar que los consumidores están dispuestos a aceptar cierta reducción en la aceptabilidad global antes de rechazar el consumo del producto.

Existió variabilidad en el tiempo requerido para que existieran cambios en los atributos del Quesillo. El valor de la hebrasidad en el producto fresco y almacenado dependió del tiempo de maduración, pero también de las diferencias encontradas en el proceso de elaboración del queso, principalmente del grado de acidez y desmineralización que se percibe mediante la prueba del “punto” por los queseros. La misma variación ocurrió con el contenido de sal.

El estudio de la vida sensorial de anaquel de Quesillo reveló la necesidad de establecer un sistema de calidad mínimo cuya finalidad sea obtener una calidad más uniforme dentro de cada quesería y afiance la aceptabilidad por parte de los consumidores, sin modificar sustancialmente las características típicas de este Quesillo.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Beuvier E. and Buchin S. (2004). Raw milk cheeses. *In*: Fox P. F., McSweeney P. L. H. and Cogan T.M. Cheese: chemistry, physics and microbiology. General Aspects. Vol. 1. Third edition. Elsevier Academic Press. USA. 319-346.
- Buffa M. N., Trujillo A. J., Pavia M., and Guamis B. (2001). Changes in textural, microestructural, and color characteristics during ripening of cheeses made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats' milk. *International Dairy Journal* 11: 927-934.
- Cardelli C., Labuza T. P. (2001). Application of Weibull hazard analysis to the determination of the shelf life of roasted and ground coffee. *LWT –Food science and Technology*, 34(5):273-278.
- Cogan T. M. and Berestford T. P. (2002). Microbiology of hard cheese. *In*: Robinson R.K (ed.). Dairy microbiology handbook, 3rd edition. John Wiley and Sons Inc, Ames, Iowa, USA. p.p. 515-560.
- Cruz A. G., Walter E. H. M., Silva Cadena R., Faria J. A.F., Bolini H.M.A, Pinheiro H. P., and Sant'Ana A. S. (2010). Survival analysis methodology to predict the shelf-life of probiotic flavored yogurt. *Food Research International* 43: 1444–1448.
- Delahunty C.M. and Drake M.A. (2004). Sensory character of cheese and its evaluation. *In*: Fox P. F., McSweeney P. L. H. and Cogan T.M. Cheese chemistry, physics and microbiology. General Aspects. Vol. 1. Third edition. Elsevier Academic Press. USA. 455-487 P.p.
- Dirección General de Normas. NMX-F-099-1970. Método de prueba para la determinación de pH en quesos procesados.
- Farkye N. and Vedamuthu E. (2002). Microbiology of soft cheeses. *In*: Robinson R.K. (ed.). Dairy Microbiology Handbook, 3rd edition. John Wiley and Sons Inc, Ames, Iowa, USA. p.p. 479-514
- Fox P.F., Guinee P.T., Cogan M.T., Mc-Sweeney L.H. (2000). Fundamentals of Cheese Science. Maryland, USA: ASPEN Publication. Pp. 557.
- Gámbaro A., Fiszman S., Giménez A., Varela P., and Salvador A. (2004). Consumer acceptability compared with sensory and instrumental measures of white pan bread: sensory shelf-life estimation by survival analysis. *Journal of Food Sciences* 69 (9): 401-405.

- Giménez A., Ares F, and Ares G. (2012). Review: Sensory shelf-life estimation: A review of current methodological approaches. *Food Research International* 49: 311–325
- Gunasekaran S. y Mehmet A. M. (2003). *Cheese rheology and texture*. CRC Press. USA. pp: 435.
- Guinee T.P. (2003). Role of protein in cheese and cheese products. *In*: Fox P. F. and McSweeney P.L.H. *Advanced Dairy Chemistry*. Vol. 1. Proteins. 3rd edn. Kluwer Academic/Plenum Publishers. pp: 1084-1174.
- Hernández M. A. (2007). Evaluación sensorial de productos agroalimentarios. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 190 p.
- Hough G. (2010). *Sensory shelf life estimation of food products*. CRC Press, Taylor & Francis Group. USA. 237 pp.
- Hough G., Calle M. L., Serrat C. and Curia A.(2007). Number of consumers necessary for shelf life estimations based on survival analysis statistics. *Food Quality and Preference* 18 : 771–775
- Hough G., Langohr K., Gómez G., and Curia A. (2003). Survival analysis applied to sensory shelf life of foods. *Journal of Food Science* 68(1): 359- 362.
- Hough G., Garitta L. and Gómez B.(2007). Sensory shelf-life predictions by survival analysis accelerated storage models. *Food Quality and Preference* 17: 468-473.
- Hough G., Puglieso M. L., Sanchez R., Mendes da Silva O. (1999). Sensory and microbiological shelf-life of a commercial Ricotta cheese. *J Dairy Sci* 82:454-459.
- KamLeh R., Toufeili I., Ajib R, Kanso B. and Haddad J. (2012). Estimation of the shelf-life of Halloumi cheese using survival analysis. *Czech J. Food Sci.* 30 (6): 512–519.
- Kilcast, D. y Subramaniam, P. (2000). *The stability and shelf-life of food*. Woodhead Publishing Limited. England. 339 p.
- Lawless H. T. and Heymann H. (2010). *Sensory evaluation of food. Principles and Practices*. Second edition. Springer. USA. 596 pp.
- Li B., Hayes J. E., and Ziegler G. R. (2014). Just-About-Right and ideal scaling provide similar insights into the influence of sensory attributes on liking. *Food Qual Prefer.* 37: 71–78.
- Lucey J. A., Johnson M. E., and Horne D. S. (2003). Invited Review: Perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese. *Journal of Dairy Science* 86(9): 2725–2743.
- Lucey, J. A., and P. F. Fox. (1993) Importance of calcium and phosphate in cheese manufacture: A review. *Journal of Dairy Science* 76:1714–1724.

- McSweeney P.H.L. (2002). Flavour, texture and flavour defects in hard and semi-cheeses. *In: McSweeney P.H.L. (editor). Cheese problems solved.* CRC Press. USA. pp:119-123.
- Medina-Villalva E. (2008). El queso Oaxaca artesanal: ¿un producto “pasteurizado”? Tesis de Licenciatura. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo, México.
- Narayanan P., Chinnasamy B. , Jin L., and Clark S. (2013). Use of just-about-right scales and penalty analysis to determine appropriate concentrations of stevia sweeteners for vanilla yogurt. *Journal of Dairy Science* 97:3262-3272.
- NOM-051-SCFI/SSA1-2010, Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados-Información comercial y sanitaria.
- NZFSA. (2005). A Guide to Calculating the Shelf Life of Foods. New Zealand Food Safety Authority. Wellington, New Zealand. 27 p.
- Popper R. and Kroll R. D. (2005). Just-About-Right scales in consumer research. *Chem Sense* 7(3): 3–6.
- Tamime A. (2002). Microbiology of starter cultures. *In: Robinson R.K. [ed.]. Dairy Microbiology Handbook*, 3rd edition. John Wiley and Sons Inc, Ames, Iowa, USA. p.p. 261-366
- Ticlayauri E. M. (2011). Evaluación de la vida útil de la papa (*Solanum tuberosum*) por análisis de supervivencia. *Revista de ciencia y tecnología* 1: 28-34.
- Wadhwani R. and McMahon D. J. (2012). Color of low-fat cheese influences flavor perception and consumer liking. *Journal of Dairy Science* 95: 2336-2346.

ANEXOS

Anexo 1

Identificación de las queserías

Quesería A. Quesería Tres Regiones. Propietario Sr. Adalberto López Castellanos.

Quesería B. Quesería Jerusa. Propietaria Sra. Alma Delia Jiménez Méndez.

Anexo 2

Microorganismos que pudieran contaminar el Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, sus posibles fuentes de contaminación y sus riesgos asociados.

Microorganismo	Riesgo asociado	Fuentes de contaminación
Bacterias mesófilas aerobias	• Deterioro del producto • Dentro de esta se ubica flora benéfica, propia del Quesillo que se multiplica durante la fermentación de la pasta	• Leche cruda con poblaciones altas de microorganismos • Presencia de polvo • Descuido de las prácticas de higiene durante la manipulación y la fermentación del Quesillo
Bacterias coliformes totales	• Deterioro del producto • Desarrollo de sabores desagradables, presencia de lama y gas. • Altas cuentas de estos microorganismos aumentan el riesgo de encontrar bacterias patógenas	• Relacionado con presencia de materia fecal • Descuido de las prácticas de higiene durante el ordeño • Descuido de la higiene de las superficies vivas (manos) y no vivas (mesas, palas, mantas para el colado)
Mohos y levaduras	• Deterioro del producto • Presencia de sabores desagradables y formación de gas • No obstante es flora natural de los quesos	• Las fuentes de contaminación de mohos y levaduras en leche se relacionan con el polvo, con los utensilios de ordeña, y el alimento del ganado. Los mohos y las levaduras pueden estar presentes en el aire en niveles de $2.0-10.0 \times 10^2$ ufc·m³

Con información de El-Gazzar y Marth, 1992; Foryste, 2000; Fox *et al.*, 2000; Gutiérrez-Cogco *et al.*, 2000; Cogan y Berestford, 2002; Farkye y Vedamuthu, 2002; Robinson y Tamime, 2002; Walstra *et al.*, 2006; Donnelly, 2007; Mostert y Buys, 2008; Moatsou y Moschopoulou, 2015.

Microorganismos que pudieran contaminar el Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, sus posibles fuentes de contaminación y sus riesgos asociados.

Microorganismo	Riesgo asociado	Fuentes de contaminación
<i>Staphylococcus aureus</i>	• Producción de enterotoxinas	• Leche proveniente de vacas mastíticas • Ser humano, los principales hábitats incluyen las membranas nasales y garganta, la piel, el tracto gastrointestinal y genital, y el cabello • Superficies contaminadas • Está presente en el aire, el polvo, las aguas residuales, y el equipo de procesamiento.
<i>Escherichia coli</i>	• Posible presencia de cepas patógenas enteropatogénicas (EPEC), enterotoxigénicas (ETEC), enteroinvasivas (EIEC), y enterohemorrágicas (EHEC)	• Indicador importante de contaminación fecal. • Estudios realizados en muestras de leche y queso se encontró que presencia de <i>E. coli</i> se relaciona con un origen ambiental.
<i>Salmonella</i> spp.	• Microorganismo patógeno causal de salmonelosis y fiebre tifoidea	• Aves (principalmente su excremento), insectos, roedores, mascotas, humanos infectados, superficies de equipos, heces y aguas negras • En México se hicieron aislamientos de cepas provenientes de animales, principalmente de aves y de ganado.

Con información de El-Gazzar y Marth, 1992; Foryste, 2000; Fox *et al.*, 2000; Gutiérrez-Cogco *et al.*, 2000; Cogan y Berestford, 2002; Farkye y Vedamuthu, 2002; Robinson y Tamime, 2002; Walstra *et al.*, 2006; Donnelly, 2007; Mostert y Buys, 2008; Moatsou y Moschopoulou, 2015.

Análisis de peligros general sobre la presencia bacterias mesófilas aerobias, bacterias coliformes totales, mohos y levaduras, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. en Quesillo de Reyes, Etlá, se sugiere el desarrollo de un POE's y bitácoras para sustentar la actividad

Proceso	Medidas preventivas	POE	Bitácora
Verificar la calidad microbiológica de la leche cruda en la recepción	Prueba de reducción de rezasurina de 1 (una) hora Conteo de células somáticas	Trazabilidad (proveedores)	Directorio de proveedores Tiempo de reducción de azul de metileno
Condiciones de fermentación	Acelerar la fermentación de la pasta mediante el uso de cultivos iniciadores provenientes de leche fermentada de alta calidad	Fermentación de la cuajada	Registro de las condiciones de fermentación (tiempo de fermentación)
	La cuajada se mantendrá cubierta y en un ambiente adecuado. Libre de polvo y protegida contra plagas domésticas (insectos, roedores, aves)	Fermentación de la cuajada	Registro de las condiciones de fermentación (Cuidados de la cuajada) (v. g. temperatura)
	En caso de que se adicione agua tibia para favorecer la fermentación ésta será potable	Manejo de agua	Registro de las condiciones de fermentación
Condiciones durante la elaboración del queso	Lavado y desinfección de manos antes de empezar con el proceso de quebrado y amasado.	Higiene de empleados	Bitácora que considere el registro de lavado de manos y la vestimenta adecuada
	Evitar la manipulación innecesaria.	Higiene de empleados	Bitácora que considere el registro de lavado de manos y la vestimenta adecuada
	Lavado y desinfección de manos antes de empezar con el proceso de quebrado y amasado.		
	Uso de cofia y cubreboca		
	El agua usada para el amasado y el enfriamiento de la hebra deberá ser potable	Elaboración del Quesillo	Registro de las condiciones de amasado y formación de la hebra (Tiempo, temperatura y calidad de agua de amasado)
Condiciones durante la elaboración	Los quesos deben salarse, tan pronto como sea posible	Elaboración del Quesillo	Registro de las condiciones de amasado y formación de la hebra (peso de la sal utilizada)
Cadena de frío	Si existe un periodo mayor que 4 horas entre la recepción y el procesamiento, la leche, deberá mantenerse a temperaturas máximas de 4 °C	Trazabilidad	Recepción de la leche
	El Quesillo deberá mantenerse en condiciones de refrigeración	Trazabilidad	Manejo del producto elaborado

Análisis de peligros general sobre la presencia bacterias mesófilas aerobias, bacterias coliformes totales, mohos y levaduras, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. en Quesillo de Reyes, Etlá, se sugiere el desarrollo de un POE's y bitácoras para sustentar la actividad

Proceso	Medidas preventivas	POE	Bitácora
Higiene y desinfección de superficies de contacto vivas (manos) e inertes (recipientes, palas, entre otros)	Verificar la salud de los trabajadores, principalmente relacionada con enfermedades infectocontagiosas, principalmente gastrointestinales	Manejo de personal (vestimenta y técnica de lavado de manos)	Registro de lavado de manos, uso de cofia y cubreboca Bitácora de capacitación
	Lavado y desinfección de manos Uso de cofia y cubreboca.	Capacitación en temas relacionados con prácticas de higiene y la prevención de ETA's	
	Lavado y desinfección de utensilios, equipos e instalaciones Capacitación en temas relacionados con la preparación y el uso de sustancias desinfectantes (se plantea el uso de ácido láctico al 2 %)	Bitácora de capacitación	Lavado y desinfección de utensilios y equipos (mantas, palas, recipientes, descremadora, refrigerador) Preparación de sustancias desinfectantes Bitácora de capacitación Higiene de instalaciones
Higiene del ambiente durante la elaboración	Control de plagas (moscas, pájaros y roedores) mediante el uso de cebos no tóxicos Control de animales domésticos (como aves, gatos y perros) Cuidado en la higiene de los alrededores de la quesería	Control de fauna doméstica y silvestre	Verificación de trampas

Anexo 3

Datos de penalización del promedio de la aceptabilidad global en los atributos evaluados en muestras de Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca, de la quesería A, con diferentes días de almacenamiento.

Variable	Nivel	Tiempo de almacenamiento (días)					
		2	5	8	11	14	17
Aroma	Poco	0.31	-0.26*	-0.11	-0.03	0.01	0.39*
	Demasiado	-0.01	-0.07	0.01	0.05	0.11	0.10
Olor	Poco	0.20	-0.04	-0.07	0.03	-0.10	0.30*
	Demasiado	0.03	-0.04	0.19	0.06	0.14	0.30
Color amarillo	Poco	0.08	0.03	0.01	-0.05	-0.03	0.01
	Demasiado	0.09	0.04	0.16	0.30*	0.19*	0.95*
Adhesividad al tacto	Poco	0.37*	0.33*	-0.10	0.08	0.33*	0.29*
	Demasiado	0.01	0.01	0.04	-0.01	0.03	0.21
Humedad al tacto	Poco	0.33*	0.23*	0.19	0.12	0.29*	0.31*
	Demasiado	0.15	0.01	0.00	-0.02	0.04	0.21
Hebrosidad	Poco	0.18	0.12	0.24	0.01	0.07	0.80*
	Demasiado	-0.02	0.05	0.11	0.04	-0.03	0.04
Textura masosa	Poco	0.19	0.24*	0.12	0.33*	0.18	0.25*
	Demasiado	0.13	0.10	0.20	-0.01	0.06	0.79
Sabor amargo	Poco	0.08	0.13	0.00	0.07	0.05	0.30
	Demasiado	0.14	0.12	0.06	0.17	0.09	0.68*
Contenido de sal	Poco	0.14	0.08	0.18*	0.22*	0.03	0.51*
	Demasiado	0.41*	0.03	0.16	0.07	0.05	0.00

*Valores con diferencia estadística entre el nivel esperado (por arriba o por debajo) fueron estadísticamente diferentes al valor esperado ($P \leq 0.05$)

Datos de penalización del promedio de la aceptabilidad global en los atributos evaluados en muestras de Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca, de la quesería B con diferentes días de almacenamiento.

Variable	Nivel	Tiempo de almacenamiento (días)					
		2	5	8	11	14	17
Aroma	Poco	0.07	0.06	-0.16	0.34*	0.07	0.00
	Demasiado	-0.01	0.03	0.08	0.13	0.12	0.13
Olor	Poco	-0.08	-0.04	0.06	0.03	-0.07	-0.07
	Demasiado	0.12	0.06	0.13	0.12	0.30	0.12
Color amarillo	Poco	0.03	-0.03	0.00	0.09	0.00	0.00
	Demasiado	0.14	0.02	0.17	-0.05	0.13	0.13
Adhesividad al tacto	Poco	0.37*	0.35*	0.41	0.14	0.29	0.12
	Demasiado	0.02	0.01	0.18*	0.00	0.13	0.16
Humedad al tacto	Poco	0.36*	0.26*	0.01	0.25	0.10	-0.01
	Demasiado	0.05	0.06	-0.04	0.00	-0.01	0.09
Hebrosidad	Poco	0.54*	0.07	0.17	0.44*	0.20	-0.16
	Demasiado	0.01	0.04	-0.05	0.11	0.01	0.07
Textura masosa	Poco	0.21	0.05	0.32	0.30	0.11	0.23
	Demasiado	0.10	0.01	0.32	0.06	0.31*	0.62*
Sabor amargo	Poco	0.15	0.09	0.24	0.11	0.19	-0.01
	Demasiado	0.18	0.13	0.44*	0.70*	0.72*	0.14
Contenido de sal	Poco	0.06	0.05	0.42*	0.04	0.29*	0.04
	Demasiado	0.18	0.07	0.18	0.71*	0.20	0.33*

*Valores con diferencia estadística entre el nivel esperado (por arriba o por debajo) fueron estadísticamente diferentes al valor esperado ($P \leq 0.05$).