



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
AGROALIMENTARIA**

**LA MICROBIOTA DEL QUESILLO DE REYES ETLA,
OAXACA, ASOCIADA A SU ESTRUCTURA Y TEXTURA**

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

Presenta:

LISSETTE PERALTA FLORES

Bajo la supervisión de: OFELIA SANDOVAL CASTILLA, DRA.



Chapingo, Estado de México, 14 de noviembre de 2023.



LA MICROBIOTA DEL QUESILLO DE REYES ETLA, OAXACA, ASOCIADA A SU ESTRUCTURA Y TEXTURA

Tesis realizada por Lissette Peralta Flores bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobado por el mismo y aceptado como requisito para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

DIRECTOR:



Dra. Ofelia Sandoval Castilla

ASESOR:



M.C. Laura Martín Márquez Roa

ASESOR:



M. C. Abraham Zacarias Villegas de Gante

Contenido

LISTA DE CUADROS	VII
LISTA DE FIGURAS	VIII
DEDICATORIAS	X
AGRADECIMIENTOS.....	XI
DATOS BIOGRÁFICOS.....	XII
RESUMEN GENERAL	1
ABSTRACT	2
1 INTRODUCCIÓN GENERAL.....	3
1.1 OBJETIVOS.....	5
1.1.1 Objetivo general	5
1.1.2 Objetivos particulares.....	5
1.2 HIPÓTESIS.....	6
1.3 Organización de la tesis.....	6
1.4 Bibliografía.....	7
2 REVISIÓN DE LITERATURA	9
2.1 Marco teórico	9
2.1.1 Leche	9
2.1.2 Queso.....	10
2.1.3 Queso artesanal/tradicional.....	12
2.1.4 Clasificación de queso	13
2.1.5 Queso de pasta filata	14

2.1.6	Quesillo	17
2.1.7	Evaluación instrumental de textura	20
2.1.8	Microestructura.....	22
2.1.9	Microbiota de los alimentos fermentados	23
2.1.10	Microbiota de la leche	23
2.1.11	Microbiota del queso.....	24
2.1.12	Metagenómica	24
2.2	Marco de referencia.....	26
2.2.1	Ubicación de Reyes Etlá, Oaxaca.....	26
2.2.2	Sector económico/social/cultural	26
2.3	Bibliografía.....	27
3	EL SISTEMA AGROINDUSTRIAL DEL QUESILLO DE REYES ETlá, OAXACA Y SU PROCESO DE ELABORACIÓN	31
3.1	Resumen	31
	Abstract	32
3.2	Introducción	33
3.3	Materiales y métodos.....	34
3.4	Resultados y discusión	34
3.4.1	Historia	34
3.4.2	El Sistema Agroindustrial Leche – Quesillo.....	35
3.4.3	Análisis del sistema agroindustrial	45
3.4.4	Elementos para un análisis FODA	48
3.5	Conclusiones	49

3.6 Bibliografía.....	51
4 CAMBIOS FISICOQUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS, TEXTURALES Y ESTRUCTURALES DEL QUESILLO EN LA TEMPORADA DE LLUVIAS Y ESTIAJE	52
4.1 Resumen	52
Abstract	53
4.2 Introducción	54
4.3 Materiales y métodos.....	55
4.3.1 Material experimental	55
4.3.2 Análisis químico proximal.....	55
4.3.3 Determinaciones microbiológicas.....	56
4.3.4 Análisis de perfil de textura	57
4.3.5 Análisis de microestructura	57
4.3.6 Diseño experimental.....	58
4.4 Resultados y discusión	58
4.4.1 Análisis químico proximal.....	58
4.4.2 Determinaciones microbiológicas.....	60
4.4.3 Análisis de Perfil de Textura.....	63
4.4.4 Análisis de microestructura	66
4.5 Conclusiones	71
4.6 Bibliografía.....	73
5 ESTUDIO METAGENÓMICO DEL QUESILLO TRADICIONAL DE REYES ETLA, OAXACA.....	77

5.1	Resumen	77
	Abstract	78
5.2	Introducción	79
5.3	Materiales y Métodos.....	80
5.3.1	Muestras evaluadas	80
5.3.2	Extracción del ADN metagenómico.....	80
5.3.3	Análisis bioinformático de las secuencias	81
5.4	Resultados y discusión	82
5.5	Conclusión	92
5.6	Bibliografía.....	94

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Componentes principales de leche de vaca.	10
Cuadro 2. Clasificación para quesos mexicanos genuinos según la consistencia de su pasta.	14
Cuadro 3. Clasificación de los quesos según el grado de maduración.	14
Cuadro 4. Definición de los términos de textura.	21
Cuadro 5. Principales características de las unidades productoras de leche en Reyes Etlá, Oaxaca de 2015 y 2023.	40
Cuadro 6. Principales características de los queseros en Reyes Etlá, Oaxaca de 2015 y 2023.	42
Cuadro 7. Características sobre la mano de obra en queserías de quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca.	44
Cuadro 8. Análisis proximal del quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca, en la temporada de lluvias (L) y estiaje (E).	59
Cuadro 9. Evaluación del pH del quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca, en la temporada de lluvias (L) y estiaje (E).	60
Cuadro 10. Caracterización microbiológica en quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca. En la temporada de lluvias (L) y estiaje (E).	61
Cuadro 11. Análisis de Perfil de Textura del quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca. En la temporada de lluvias (L) y estiaje (E).	64
Cuadro 12. Evaluación de la diversidad de género en tres queserías de quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca, evaluados en la temporada de lluvias y estiaje.	82
Cuadro 13. Evaluación de diversidad de especies de tres queserías de quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca, en la temporada de lluvias y estiaje.	83

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación de los quesos.....	13
Figura 2. Diagrama de bloques del proceso general “promedio” de elaboración del Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca.....	19
Figura 3. Representación del Sistema Agroindustrial Leche - Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca de 2015.	37
Figura 4. Representación del Sistema Agroindustrial Leche - Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca de 2022.	38
Figura 5. Serie de micrografías de quesillo de Reyes Etla, Oaxaca en la temporada de lluvia al día 2 de almacenamiento en las diferentes queserías (Q1: quesería 1; Q2: quesería 2; Q3: quesería 3). La barra en las imágenes corresponde a 50 μm	69
Figura 6. Serie de micrografías de quesillo de Reyes Etla, Oaxaca en la temporada de estiaje al día 2 de almacenamiento en las diferentes queserías (Q1: quesería 1; Q2: quesería 2; Q3: quesería 3) de quesillo de Reyes Etla, Oaxaca. La barra en las imágenes corresponde a 50 μm	69
Figura 7. Serie de micrografías de quesillo de Reyes Etla, Oaxaca en la temporada de lluvia al día 12 de almacenamiento en las diferentes queserías (Q1: quesería 1; Q2: quesería 2; Q3: quesería 3). La barra en las imágenes corresponde a 50 μm	70
Figura 8. Serie de micrografías de quesillo de Reyes Etla, Oaxaca en la temporada de estiaje al día 12 de almacenamiento en las diferentes queserías (Q1: quesería 1; Q2: quesería 2; Q3: quesería 3) de quesillo de Reyes Etla, Oaxaca. La barra en las imágenes corresponde a 50 μm	70
Figura 9. Porcentaje de abundancia de género en el quesillo de Reyes Etla, Oaxaca. Evaluado en la temporada de lluvias (A) y estiaje (B) en las diferentes queserías (Q1 = quesería 1, Q2 = quesería 2, Q3 = quesería 3).....	86

Figura 10. Porcentaje de abundancia de especie en el quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca. Evaluado en la temporada de lluvias (A) y estiaje (B) en las diferentes queserías (Q1 = quesería 1, Q2 = quesería 2, Q3 = quesería 3)..... 88

DEDICATORIAS

A mi mamá Olivia Flores Velázquez por sus consejos y apoyo incondicional durante esta etapa de mi vida.

A mi papá Víctor Efraín Peralta Falcón por su apoyo en esta etapa en mi vida.

A mis hermanos Efraín y Fernando por apoyarme en esta etapa de mi vida.

Y a todas esas personas que han estado a mi lado y forman parte de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías por el financiamiento otorgado en mi proyecto de investigación. Así mismo, a la Universidad Autónoma Chapingo y al Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria por darme la oportunidad de cumplir con una meta más en mi vida.

A la Dra. Ofelia Sandoval Castilla por la dirección, asesoría, disposición, colaboración y sobre todo la paciencia durante el desarrollo del trabajo de investigación.

Al Mtro. Abraham Villegas de Gante por la dirección, asesoría, disposición y colaboración durante el desarrollo del trabajo de investigación.

A la M. C. Laura Martín Márquez Roa por su contribución y sugerencias para la elaboración de la tesis.

Al Dr. Baldomero Alarcón Zúñiga por su apoyo y conocimiento.

Al M. C. Guillermo Pérez Esteban por su apoyo y asesoría durante el trabajo de investigación.

Al M. C. Anthony Martín Ortiz Deleón por su apoyo y asesoría durante el trabajo de investigación.

A la Sra. Eva Alcázar, al Sr. Enrique y al Sr. Lorenzo Reyes, productores de quesillo en Reyes Etlá, Oaxaca, por su valioso conocimiento y tiempo que me brindaron durante la elaboración del trabajo de investigación.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre: Lissette Peralta Flores

Fecha de nacimiento: 12 de junio de 1997

Lugar de nacimiento: Texcoco, Estado de México.

Profesión: Ingeniero Agroindustrial.

Desarrollo académico

Preparatoria: Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo.

Licenciatura: Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Autónoma Chapingo.

RESUMEN GENERAL

LA MICROBIOTA DEL QUESILLO DE REYES ETLA, OAXACA, ASOCIADA A SU ESTRUCTURA Y TEXTURA

El estudio de un queso tradicional mexicano debe comprender su calidad (nutricional, química, entre otras), así como las relaciones entre los integrantes de la cadena agroalimentaria. Para el quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca, se realizó el estudio del Sistema agroindustrial leche – quesillo, se analizó la composición fisicoquímica, la caracterización microbiológica en las dos temporadas (Lluvias y estiaje) de elaboración, así como, el análisis de las características texturales instrumentales y microestructura durante el tiempo de consumo. También se caracterizó la biodiversidad del microbioma empleando la técnica metagenómica shotgun. Las muestras de quesillo se obtuvieron de tres queserías (Q1, Q2 y Q3) ubicadas en Reyes Etlá, Oaxaca. Se determinó la evaluación proximal, la caracterización microbiológica, el análisis de Perfil de Textura y microestructura; en la biodiversidad del microbioma se empleó la diversidad α y se utilizaron géneros y especies con una abundancia relativa $\geq 1\%$. Se halló que el sistema leche – quesillo ha cambiado en los últimos años por diversos factores, como es la escasez de leche. Se observó que la quesería y la temporada influyen significativamente ($p \leq 0.05$) en el contenido de humedad, proteína, grasa y cenizas, así como, una mayor ($p \leq 0.05$) cuenta bacteriana en la temporada de lluvias. En el análisis de textura y microestructura se observaron cambios durante el tiempo de almacenamiento en las temporadas evaluadas. Los géneros más abundantes de BAL fueron *Lactococcus*, *Streptococcus* y *Enterococcus*, mientras que las especies *Lactococcus lactis* y *Staphylococcus aureus*. La mayoría de los queseros elaboran el quesillo de manera artesanal; los cambios en la composición fisicoquímica se deben a la alimentación del ganado; en la temporada de lluvias se favorece el crecimiento de bacterias. Hubo cambios en la textura y microestructura durante el almacenamiento, y se observaron diferencias en la microbiota del quesillo entre queserías y temporadas evaluadas.

Palabras clave

Quesillo, sistema agroindustrial, microbiota, temporada, metagenómica.

Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Lissette Peralta Flores

Director: Ofelia Sandoval Castilla, Dra.

ABSTRACT

THE MICROBIOTA OF QUESILLO DE REYES ETLA, OAXACA, ASSOCIATED WITH ITS STRUCTURE AND TEXTURE

The study of a traditional Mexican cheese must comprehend its quality (nutritional, and chemical, among others) and the relationships between the members of the agri-food chain. For the quesillo from Reyes Etlá, Oaxaca, the study of the milk-quesillo agro-industrial system was carried out, the physicochemical composition was analyzed, the microbiological characterization in the two seasons (rainy and dry) of production, as well as the analysis of instrumental textural characteristics and microstructure during consumption time. The biodiversity of the microbiome was also characterized using the shotgun metagenomics technique. The quesillo samples were obtained from three cheese factories (Q1, Q2 and Q3) located in Reyes Etlá, Oaxaca. The proximate analysis, the microbiological characterization, the Texture Profile, and microstructure analysis were determined; in the biodiversity of the microbiome the α diversity was used and genera and species with a relative abundance $\geq 1\%$ were used. The milk – cheese system has changed in recent years due to various factors, such as the shortage of milk. It was observed that the cheese factory and the season significantly influence ($p \leq 0.05$) the moisture, protein, fat, and ash content, as well as a higher bacterial count ($p \leq 0.05$) in the rainy season. In the texture and microstructure analysis, changes were observed during storage time in the seasons evaluated. The most abundant LAB genera were *Lactococcus*, *Streptococcus* and *Enterococcus*, while the species were *Lactococcus lactis* and *Staphylococcus aureus*. Most cheese makers make the cheese in an artisanal way; changes in the physicochemical composition are due to livestock feeding. The growth of bacteria is favored in the rainy season. There were changes in texture and microstructure during storage, and differences were observed in the cheese microbiota between cheese factories and seasons evaluated.

Key words

Quesillo, agroindustrial system, microbiota, season, metagenomics.

Thesis of Master Science, Program of Agro-Food Science and Technology, Universidad Autónoma Chapingo

Author: Lissette Peralta Flores

Thesis Director: Ofelia Sandoval Castilla, Dra.

1 INTRODUCCIÓN GENERAL

En los últimos años los alimentos fermentados elaborados artesanalmente se han considerado como fuente de recursos biológicos, que pueden proporcionar beneficios tanto tecnológicos como para la salud; uno de los productos que destacan es el queso, se dice que es un ecosistema dinámico, en el que el medio ambiente es orgánico y la biota se encuentra compuesta por microorganismos (bacterias, hongos y levaduras). Al tener una microbiota natural ayuda a mejorar la calidad de la producción del queso en términos de sabor, textura y aspectos de seguridad (Kothe et al., 2022; Parente et al., 2022).

Por otra parte, los quesos artesanales se producen y consumen cada vez más, particularmente los elaborados a partir de leche cruda (Nero et al., 2021; Zoumpopoulou et al., 2020). Los quesos que se producen alrededor del mundo tienen características diferentes, esto es atribuible a la región en la que se elaboran (de Souza et al., 2021), debido a la influencia de factores externos (el clima, la calidad de la leche, la microbiota autóctona, etc.), dando como resultado productos únicos que forman parte de un patrimonio y una identidad de un lugar en particular (Kothe et al., 2022).

En México se han identificado alrededor de 40 quesos diferentes, y estos forman parte de un patrimonio culinario, que se elaboran principalmente de manera artesanal (Cesín-Vargas et al., 2018). Uno de ellos es el queso tipo Oaxaca, este es considerado uno de los más producidos y consumidos en México, ya sea a escala artesanal o industrial, en el primer caso, este tiene características particulares que lo hacen diferente, aunándoles su historia y riqueza cultural, como es el caso del quesillo de Reyes Etla Oaxaca, considerado como el lugar de origen. Las características particulares que tiene este queso se deben a su

materia prima, su forma de elaborarse y la microbiota asociada al mismo proceso de elaboración (Villegas et al., 2014).

El quesillo de Reyes Etlá Oaxaca se elabora a partir de leche cruda de vaca que tiene una flora nativa, y los factores externos que influyen en su elaboración (raza de la vaca, alimentación, clima, temperatura, agua, entre otros), le otorgan una tipicidad y / o características particulares que lo hacen ser un producto diferente a los que se elaboran en las diversas regiones de México (Villegas et al., 2014). Actualmente, una forma de analizar la microbiota es el empleo de la metagenómica, es una herramienta que permite obtener información sobre la composición microbiológica, sucesión microbiana durante vida de anaquel y las posibles interacciones entre los géneros que afectan la calidad del queso (Suárez et al., 2020a).

En investigaciones recientes se ha demostrado que los microorganismos que se encuentran en el queso, se originan a partir de las materias primas utilizadas, el medio ambiente, así como la microbiota de la leche cruda, que se encuentra influenciada por el canal del pezón y la piel circundante del animal, las condiciones ambientales, la estacionalidad, entre otros, así mismo, por los equipos e instrumentos que se emplean para su producción. Lo mencionado anteriormente causa una variabilidad en el microbioma entre productores (Salazar et al., 2018; Sánchez-Valdés et al., 2016; Yeluri Jonnala et al., 2018).

Se ha encontrado que la leche tiene microorganismos no patógenos como son las bacterias ácido - lácticas (BAL), que brindan características bioquímicas, microbiológicas, texturales y sensoriales a los quesos, generando una autenticidad y tipicidad (Castro-Castillo et al., 2013). Por lo tanto, es importante caracterizar la microflora mediante la metagenómica, ya que ésta realiza análisis exhaustivos de la diversidad microbiana presente en una muestra de alimento (Kothe et al., 2022; Marino et al., 2019a).

El quesillo de Reyes Etlá Oaxaca es considerado como un queso mexicano genuino, esto se debe a que contribuye a la integridad de las cadenas

agroindustriales leche – queso, por otro lado, ayuda a la valorización de los recursos territoriales locales (ganado, agua, clima, entre otros). El más importante es el saber hacer colectivo que se ha ido transmitiendo de generación en generación, permitiendo que se mantenga el patrimonio cultural y gastronómico, lo cual ayuda a la construcción de nuestra identidad nacional (Villegas et al., 2014).

Al identificar la biodiversidad microbiana que se encuentra asociada a la leche y al quesillo mediante el análisis metagenómico, nos generó conocimiento integral para elucidar los cambios estructurales y texturales asociados a la composición microbiana; parámetros que conforman la calidad integral del quesillo.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo general

Identificar la biodiversidad microbiana, en contraste con la estacionalidad en queserías de producción de quesillo artesanal elaborado en Reyes Etlá, Oaxaca y su influencia sobre las características texturales y microestructura durante el tiempo de consumo.

1.1.2 Objetivos particulares

- Estudiar el sistema producto durante los últimos años, y comparar sus avances tecnológicos y las relaciones que hay entre los diferentes eslabones que conforman al sistema.
- Analizar la composición fisicoquímica del quesillo elaborado en la temporada de lluvias y secas.
- Realizar la caracterización microbiológica (mesófilos aerobios, coliformes totales, bacterias ácido – lácticas, hongos y levaduras) del quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca en la temporada de lluvias y estiaje.
- Evaluar las características texturales instrumentales y microestructura del quesillo durante el tiempo de consumo en las dos temporadas de elaboración.

- Caracterizar la biodiversidad del microbioma del quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca, asociada con la temporada de elaboración, empleando la técnica metagenómica shotgun.

1.2 HIPÓTESIS

- La leche cruda que se emplea para la elaboración del quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca contiene una microbiota nativa que es más elevada y variable en la época de lluvias que en secas, generando que las características finales del producto sean diferentes.

1.3 Organización de la tesis

El presente trabajo se encuentra conformado por tres capítulos: el estudio del sistema producto, los cambios fisicoquímicos, microbiológicos, texturales y estructurales del quesillo en la temporada de lluvias y estiaje, y el estudio metagenómico del quesillo tradicional de Reyes Etlá, Oaxaca.

1.4 Bibliografía

- Castro-Castillo, G., Martínez-Castañeda, F., Martínez-Campos, Á., & Espinoza-Ortega Angélica. (2013). Caracterización de la microbiota nativa del queso Oaxaca tradicional en tres fases de elaboración. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 33, 105–109. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562013000200004&nrm=iso
- Cesín-Vargas, A., Agudelo-López, M. A., & Bastidas-Correa, A. (2018). Problemática y oportunidades de la producción de queso artesanal en México. *Avances de La Investigación Sobre Producción Animal y Seguridad Alimentaria En México*, 313–326.
- de Souza, T. P., Evangelista, S. R., Passamani, F. R. F., Bertechini, R., de Abreu, L. R., & Batista, L. R. (2021). Mycobiota of Minas artisanal cheese: Safety and quality. *International Dairy Journal*, 120, 105085. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105085>
- Kothe, C. I., Mohellibi, N., & Renault, P. (2022). Revealing the microbial heritage of traditional Brazilian cheeses through metagenomics. *Food Research International*, 157, 111265. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111265>
- Marino, M., Dubsky de Wittenau, G., Saccà, E., Cattonaro, F., Spadotto, A., Innocente, N., Radovic, S., Piasentier, E., & Marroni, F. (2019). Metagenomic profiles of different types of Italian high-moisture Mozzarella cheese. *Food Microbiology*, 79, 123–131. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.12.007>
- Nero, L. A., Andretta, M., Almeida, T. T., Ferreira, L. R., Camargo, A. C., Yamatogi, R. S., Carvalho, A. F., & Call, D. R. (2021). Lactic microbiota of the minas artisanal cheese produced in the serro region, Minas Gerais, Brazil. *LWT - Food Science and Technology*, 148, 111698. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111698>
- Parente, E., Zotta, T., & Ricciardi, A. (2022). A review of methods for the inference and experimental confirmation of microbial association networks in cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 368, 109618. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109618>
- Salazar, J. K., Carstens, C. K., Ramachandran, P., Shazer, A. G., Narula, S. S., Reed, E., Ottesen, A., & Schill, K. M. (2018). Metagenomics of pasteurized and unpasteurized gouda cheese using targeted 16S rDNA sequencing. *BMC Microbiology*, 18(1), 189. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1323-4>
- Sánchez-Valdés, J., Colín-Navarro, V., López-González, F., Avilés-Nova, F., Castelán-Ortega, O., & Estrada-Flores, J. (2016). Diagnóstico de la calidad sanitaria en las queserías artesanales del municipio de Zacazonapan, Estado de México. *Salud Pública de México*, 58(4), 461–467.

- Suárez, N., Weckx, S., Minahk, C., Hebert, E. M., & Saavedra, L. (2020). Metagenomics-based pproach for studying and selecting bioprotective strains from the bacterial community of artisanal cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 335, 108894. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108894>
- Villegas, A., Cervantes, F., Cesín, A., Espinoza, A., Hernández, A., Santos, A., & Martínez, Á. (2014). *Atlas de los quesos mexicanos genuinos* (1st ed.). Colegio de Postgraduados.
- Yeluri Jonnala, Bhagya. R., McSweeney, P. L. H., Sheehan, J. J., & Cotter, P. D. (2018). Sequencing of the Cheese Microbiome and Its Relevance to Industry. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01020>
- Zoumpopoulou, G., Papadimitriou, K., Alexandraki, V., Mavrogonatou, E., Alexopoulou, K., Anastasiou, R., Georgalaki, M., Kletsas, D., Tsakalidou, E., & Giaouris, E. (2020). The microbiota of Kalathaki and Melichloro Greek artisanal cheeses comprises functional lactic acid bacteria. *LWT - Food Science and Technology*, 130, 109570. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109570>

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Marco teórico

2.1.1 Leche

La NOM-243-SSA1-2010 define a la leche como “la secreción natural de las glándulas mamarias de las vacas sanas o de cualquier otra especie animal, excluido el calostro”.

Villegas et al. (2015) definen a la leche tanto en el ámbito biológico como tecnológico, en el primer caso se entiende como el “producto secretado por los mamíferos hembra para la alimentación de sus crías durante las primeras etapas de su crecimiento”. Mientras que de manera tecnológica “es un sistema fluido muy complejo formado por tres subsistemas fisicoquímicos bien definidos, una emulsión de aceite en agua, una solución coloidal proteica y una solución verdades”.

Alais (1996) define a la leche como “un líquido secretado por las glándulas mamarias de las hembras de los mamíferos, tras el nacimiento de la cría. Es un líquido de composición compleja, blanco y opaco, de sabor dulce y reacción iónica cercana a la neutralidad”.

Walstra et al. (2005) define a la leche como “la secreción de las glándulas mamarias de los mamíferos, siendo su principal función natural la nutrición de las crías. La leche de algunos animales, especialmente vacas, búfalos, cabras y ovejas, también se utiliza para el consumo humano, ya sea como tal o en forma de una variedad de productos lácteos”.

A continuación, en el Cuadro 1 podemos observar los principales componentes en la leche.

Cuadro 1. Componentes principales de leche de vaca.

Componentes	Contenido promedio (% w / w)
Agua	87.1
Sólidos no grasos	8.9
Lactosa	4.6
Grasa	4.0
Proteína	3.3
Sustancias minerales	0.7
Ácidos orgánicos	0.17

Elaboración propia con información obtenida de: Walstra et al. (2005)

Conforme al Cuadro 1 podemos observar que el agua es el componente más abundante, por otro lado, la lactosa es el carbohidrato principal. En el caso de la grasa se compone en gran parte de triglicéridos, seguido de fosfolípidos, colesterol, ácidos grasos libres, monoglicéridos y diglicéridos (Walstra et al., 2005). La proteína más abundante es la caseína (α S1-, α S2-, β - y κ -caseína), mientras que en menor cantidad se encuentran las proteínas del suero como es el caso de la β -lactoglobulina. Las sustancias minerales son: K, Na, Ca, Mg, Cl y fosfato. Los ácidos orgánicos se presentan principalmente como iones o como sales; el citrato es el principal. El contenido total de todas las sustancias, excepto el agua, se denomina contenido de materia seca (Walstra et al., 2005).

2.1.2 Queso

Queso es el nombre genérico de un grupo de productos alimenticios a base de leche, fermentada o no, producidos en una amplia gama de sabores y formas en todo el mundo (Fox & McSweeney, 2017). Se cree que evolucionó en la “Creciente Fértil”, entre los ríos Tigris y Éufrates hace aproximadamente 8,000 años.

Se considera que el primer paso para la elaboración del queso es la coagulación de la leche, ya sea por acidificación (derivada del metabolismo del cultivo iniciador o la adición directa de ácido) o enzimática (cuajo animal, vegetal, coagulantes microbianos o quimosina clonada). Una vez que la leche coagula, esta se corta, ya sea con cuchillo o liras (Freitas et al., 2013). El tamaño de las partículas de la cuajada depende principalmente de la variedad del queso. Por otro lado, la sinéresis de la cuajada y la eliminación del suero, dependen del tipo de queso, ya que, en algunos casos, la cuajada se mantiene en el suero durante un periodo breve antes de transferirla directamente a los moldes y escurrirla (queso blando madurado con moho); se puede dejar el suero durante un periodo más largo, empleando una etapa de cocción o escaldado (v.g. queso Cheddar); o simplemente el suero es reemplazado parcialmente con agua caliente (v.g. queso Gouda) (Freitas et al., 2013).

Una vez eliminado el suero, la cuajada se puede moldear y salar. En algunos casos, el proceso final en la elaboración del queso es la maduración, en esta etapa el queso es almacenado a una temperatura y humedad determinada, durante un tiempo que puede ir de los 18 a 24 meses (Freitas et al., 2013). Se considera que, las cualidades organolépticas finales del queso están dadas por los cambios físicos y químicos que se producen en la maduración, así mismo, la composición y la estructura están determinadas por las operaciones de producción de la cuajada, pero durante la maduración es cuando se desarrollan de manera individual las características únicas de cada variedad de queso (Freitas et al., 2013).

La composición del queso es influenciada por la constitución de la leche, especialmente al contenido de grasa, proteína, calcio y el valor de pH. Estos factores se ven influenciados por la especie, la raza, las variaciones individuales de los animales, el estado nutricional, la salud y la etapa de lactancia (Fox & Guinee, 2013).

2.1.3 Queso artesanal/tradicional

Antes de definir que es un queso tradicional, es importante abordar el significado de lo tradicional enfocado hacía los alimentos. Se entiende que el concepto tradicional tiene cuatro elementos, esto quiere decir que el alimento debe ser local (nacional o regional), auténtico, tener historia y una herencia gastronómica (Cervantes et al., 2008).

Cervantes et al. (2008) mencionan que el queso tradicional “es aquel que posee una raíz histórica que se remonta a décadas o siglos. Incluye técnicas de elaboración poco modificadas en el tiempo y materia prima e insumos originales”.

Domínguez–López et al. (2011) definen queso tradicional como “producto principalmente hecho a mano, en lotes pequeños con atención particular al arte tradicional del quesero, empleando la menor cantidad posible de procesos mecánicos en la producción de éste”.

Licitra (2010) considera que los quesos tradicionales son productos de nicho, que por lo común son elaborados a mano y producidos a nivel de finca o pueblo. Por tal motivo, se tiene una gran vinculación al territorio de origen (v.g. orografía, paisaje y recursos humanos), por lo que son testimonio de la historia, cultura y de la forma de vida. Así mismo, estos tipos de productos se caracterizan por tener sabores intensos y diferentes, con una variabilidad alta entre cada variedad de queso.

Por otro lado, todo queso tradicional se origina a partir de sistemas complejos que brindan características particulares que se encuentran ligadas a diversos factores, como es el caso del medio ambiente, el macro y microclima, el pasto natural, la raza de los animales, el empleo de leche cruda y su microflora natural, el uso de coagulantes e ingredientes naturales y la tecnología quesera (Licitra, 2010).

A continuación, se abordará las diversas clasificaciones que podemos encontrar en los quesos.

2.1.4 Clasificación de queso

Villegas et al. (2015) mencionan que existen numerosas clasificaciones de quesos, éstas pueden ser por la consistencia de la pasta, el grado de maduración, y el tipo de los agentes de maduración. Se considera que la consistencia de la pasta es un atributo de textura, y ésta tiene que ver con la deformación que sufre al ser sometida a fuerzas de presión, corte y punción. A continuación, se puede observar en Figura 1 la clasificación de Villegas & Huerta (2015).

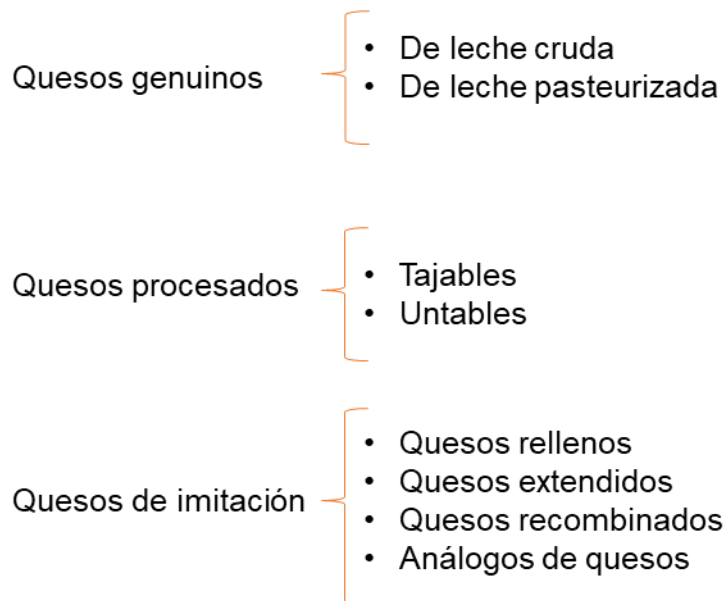


Figura 1. Clasificación de los quesos.

Elaboración propia con información obtenida de: (Villegas & Huerta, 2015).

Villegas & Huerta (2015) agrupan los quesos en tres clasificaciones, los quesos genuinos, los quesos procesados y los quesos de imitación. En los quesos genuinos pueden ser elaborados a partir de leche cruda o pasteurizada, por otro lado, los quesos procesados y de imitación son diferentes a los quesos naturales, ya que no son elaborados directamente a partir de leche, sino se emplean otros ingredientes como queso natural, leche desnatada, agua, caseinatos, aceites vegetales, proteínas vegetales, entre otros (Fox et al., 2017).

A continuación, se observa la clasificación de los quesos por la consistencia de la pasta (Cuadro 2) y el grado de maduración (Cuadro 3).

Cuadro 2. Clasificación para quesos mexicanos genuinos según la consistencia de su pasta.

Pasta	Ejemplo
Blanda	Quesos untables (crema y fresco), queso panela y queso ranchero.
Semidura	Chihuahua menonita, tipo manchego mexicano de morral.
Dura	Parmesano, romano, queso Cotija y quesos añejos molidos.

Elaboración propia con información obtenida de: (Villegas et al., 2015).

En el caso de la primera clasificación se tiene la pasta blanda (v.g. queso panela), semiblanda (v.g. manchego) y dura (v.g. Cotija). Por otro lado, la clasificación de los quesos por el grado de maduración son la fresca (v.g. panela, quesillo), medianamente madurado (v.g. queso chihuahua) y fuertemente madurado (Cotija).

Cuadro 3. Clasificación de los quesos según el grado de maduración.

Pasta	Ejemplo
Fresca	Panela, quesillo, queso adobera.
Medianamente madurado	Queso chihuahua, queso tipo manchego, cheddar.
Fuertemente madurado	Camembert, cabrales, Cotija Región de Origen

Elaboración propia con información obtenida de: (Villegas et al., 2015).

A continuación, se hablará sobre el queso de pasta hilada o filata.

2.1.5 Queso de pasta filata

Los quesos de pasta hilada o filata se originan principalmente en las áreas del norte del Mediterráneo, lo que es Italia, Turquía y los países de la península de

los Balcanes y Europa del Este. También se pueden incluir áreas como América del norte (México), América Central (Honduras y Costa Rica) y América del sur (Venezuela); bajo los nombres de Mozzarella, Provolone, Kasseri, Cacciocavallo, Kashkaval y Kashar (Hayaloglu, 2016), Oaxaca, Palmito, quesillo de Honduras y De mano (Minervini et al., 2022). En la actualidad estos quesos se siguen elaborando en algunas regiones con métodos tradicionales a partir de leche de vaca, cabra, oveja o búfala de agua (McMahon & Oberg, 2017). Se considera que el queso mozzarella es el más representativo de los quesos pasta filata (Hayaloglu, 2016).

Se considera que los quesos de pasta hilada representan la mayor contribución que Italia ha aportado a la industria láctea (Faccia et al., 2013). El nombre de pasta filata, deriva de una frase italiana que significa “pasta hilada” o “cuajada estirada”, esto se refiere a un proceso único de plastificación y estiramiento compartido por los quesos de pasta filata que proporciona a este diverso grupo una identidad en común (McMahon & Oberg, 2017). Esta categoría de quesos incluye diferentes productos que se diferencian entre sí por la materia prima, la tecnología y el tamaño (Faccia et al., 2013).

Legg et al. (2017) mencionan que los quesos de pasta hilada son aquellos quesos para los cuales la cuajada ha sido trabajada o estirada, esto se logra mediante la combinación adecuada de pH y contenido de calcio en la cuajada (Correia & Cardarelli, 2021) y moldeada a una temperatura elevada (mayor de 55 °C) antes de enfriarse. Este proceso imparte una estructura fibrosa única y característica que influye tanto en la maduración como en el perfil funcional del queso final (Hayaloglu, 2016).

Los quesos filatas tienen en común el paso de sumergir la cuajada en agua caliente o salmuera, y trabajarla (estirar), ya sea de manera manual o mecánica, con el fin de lograr una consistencia plástica semi fluida, la cual puede ser formada y moldeada en diversas formas (De Angelis & Gobetti, 2011; Kindstedt, 2002). Por otro lado, el proceso de estiramiento representa un tratamiento de calentamiento en la cuajada fresca, se cree que esta práctica se originó como

método de preservación, para mejorar la calidad y prolongar la vida de anaquel del queso. Así mismo, el tratamiento térmico inactiva algunos microorganismo y enzimas. El estiramiento da como resultado el reordenamiento de la estructura de la cuajada, originando características de textura y fusión únicas (Kindstedt, 2002).

De Angelis & Gobbetti (2011) mencionan que el proceso de estiramiento es la característica principal de los quesos pasta – filata e influye directamente en la textura. El estiramiento transforma las tres dimensiones amorfas de la matriz de proteína en el cuajado en una estructura casi laminada, formada por fibras proteicas alineadas de manera paralela separada por canales que contienen acumulación de grasa y suero. Esta capacidad de la cuajada parece estar dada principalmente por la cantidad de calcio asociado a la caseína (fosfato de calcio) que está disponible para la formación de una red tridimensional de la matriz de paracaseína amorfa en el momento en que se aplica calor a la cuajada. La hidratación de la paracaseína aumenta a medida que disminuye el nivel de calcio asociado a la caseína, por lo que, esto puede contribuir a la capacidad de plastificación de la cuajada (De Angelis & Gobbetti, 2011).

Se considera que la cuajada con demasiado calcio asociado a la caseína no alcanza una consistencia suave y estirable al calentarse, mientras que la cuajada con muy poco calcio se vuelve excesivamente blanda y fluida durante el estiramiento (De Angelis & Gobbetti, 2011). Por otro lado, la distribución del calcio está dada por el pH de la cuajada al momento del estiramiento: a bajo pH favorece el calcio en estado soluble mientras que a pH alto favorece al calcio en el estado de asociación de la caseína (Kindstedt, 2002).

Por lo tanto, el contenido de calcio total de la cuajada y la distribución del calcio entre el estado soluble e insoluble, determinan la cantidad de calcio asociado a la caseína en la cuajada al momento del estiramiento. El calcio asociado a la caseína se separa de la matriz de paracaseína a la fase acuosa a medida que disminuye el pH de la cuajada y progresa la sinéresis (De Angelis & Gobbetti, 2011). Por lo que, controlar la acidificación, desmineralización y la deshidratación

junto con lograr el pH crítico de la cuajada en el momento del estiramiento, son los parámetros tecnológicos más importantes para los quesos de pasta filata (Kindstedt, 2002).

Los quesos de pasta filata incluyen quesos blandos o semiblandos que se consumen frescos (v.g., mozzarella fresca elaborada con leche entera y con un contenido de humedad del 55 % o superior) o después de un breve período de maduración (v.g., mozzarella parcialmente descremada con bajo contenido de humedad), mientras que otras variedades son quesos maduros duros o semiduros madurados por más tiempo antes del consumo (por ejemplo, Caciocavallo, Kashkaval, Provolone y Ragusano) (McMahon & Oberg, 2017).

2.1.6 Quesillo

Definición

El queso Oaxaca es considerado como un queso de pasta hilada blanda (Caro et al., 2020a). En función del proceso de elaboración utilizado, hay dos tipos de este queso: el queso tradicional, elaborado normalmente a partir de leche entera cruda acidificada de forma natural, y el queso de fábrica, elaborado a partir de leche pasteurizada fermentada con cultivos lácticos (o ácidos orgánicos), que se envasa y etiqueta para la venta (Colín-Cruz et al., 2012).

Historia

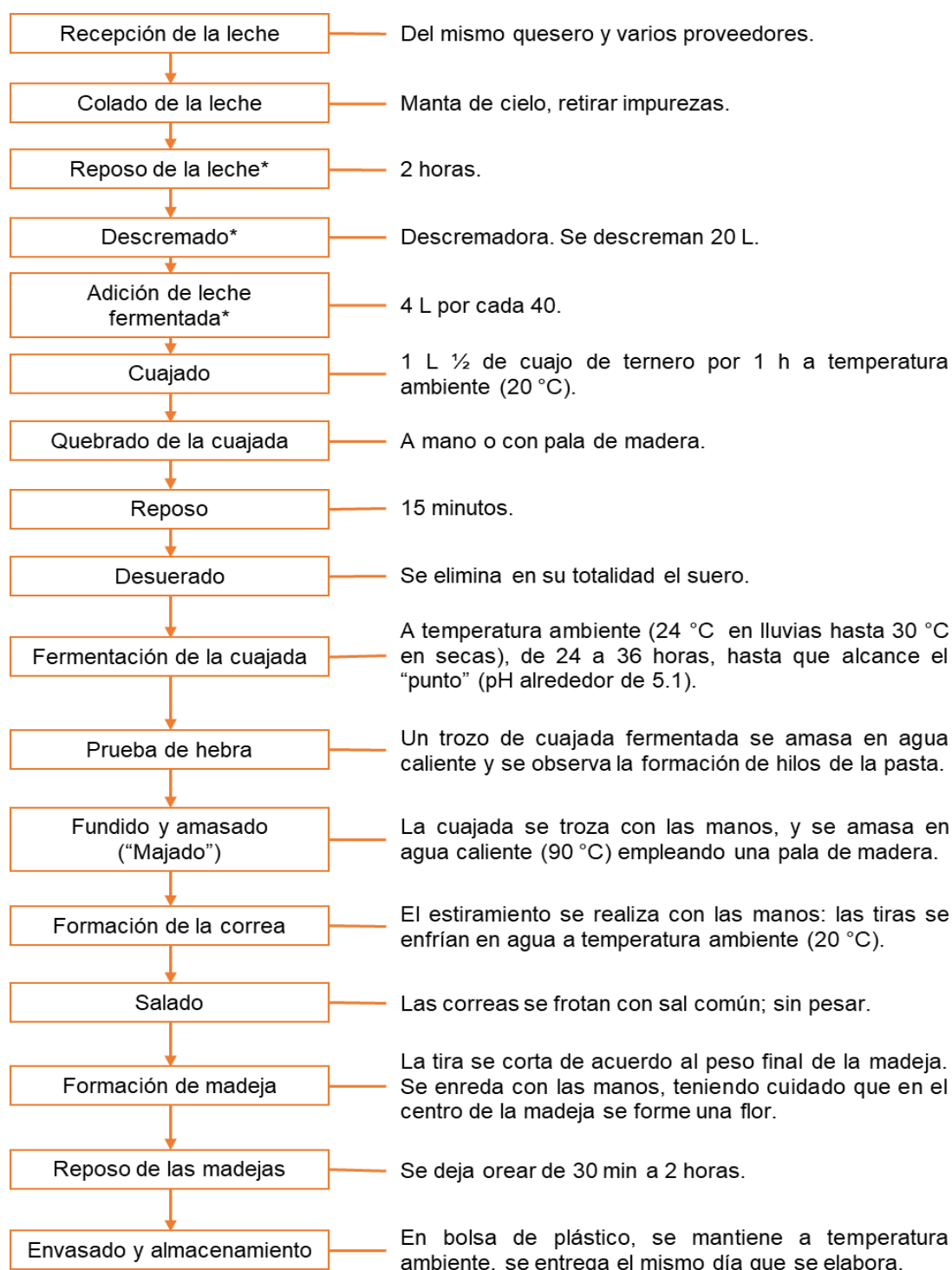
Se cree que el quesillo surgió por “Leobarda Castellanos García”, una niña de 14 años, quien un día se encontraba cuidando el cuajado de la leche para convertirla en queso, pero dejó la mezcla más tiempo de lo requerido, provocando que el cuajado se pasara de su punto, lo cual lo trató de remediar agregándole agua caliente, lo que generó una masa chiclosa de color blanca a la cual se le nombró “quesillo” (El Financiero, 2022).

Por otro lado, Camacho-Vera et al. (2020) mencionan que no se puede establecer de manera concreta el origen del quesillo tradicional, ya que, conforme a unos

relatos, en 1915 ya se producía quesillo en Reyes Etlá, pero en poca cantidad, debido a la escasez de leche en la región.

Proceso de elaboración

El proceso de elaboración de este queso consiste principalmente en la fermentación de la cuajada (aprox. pH 5.1), se amasa en agua caliente (90 °C) (Máquez, 2015) y se estira con el fin de formar tiras largas y delgadas de cuajada, posteriormente es enfriado en agua fría, se sala y se cortan segmentos de 0.2 a 2 kg, y finalmente se forma la madeja (Caro et al., 2020a). A continuación, se muestra el diagrama de bloques para elaborar queso Oaxaca con leche cruda (fermentada).



*Paso que no se realiza en todas las queserías.

Figura 2. Diagrama de bloques del proceso general "promedio" de elaboración del Quesillo de Reyes, Etla, Oaxaca.

Elaboración propia con información obtenida de: Márquez (2015).

Características

El queso Oaxaca se puede describir como un queso blando con una textura fibrosa, consistencia de hilo, con propiedades de fusión, sabor suave y con una forma final de “bola” o “madeja” (Villegas et al., 2016; Escobedo-Avellaneda et al., 2021).

2.1.7 Evaluación instrumental de textura

Perfil de textura instrumental

Antes de abordar el perfil de textura instrumental, es importante hablar sobre la textura, por lo tanto, se considera que la textura es el principal atributo de calidad de los quesos. Esto quiere decir que el aspecto general y la sensación en la boca de los quesos se aprecian antes que su sabor. Asimismo, para cada tipo de queso hay un atributo de textura dominante (Gunasekaran y Mehmet, 2003).

Por otro lado, las técnicas de medición de textura las podemos agrupar en subjetivas o instrumentales. La primera también conocida como evaluación sensorial, ésta es realizada por un panel de degustación entrenado. Mientras que los métodos instrumentales se pueden agrupar en empíricos, imitativos y fundamentales (Gunasekaran y Mehmet, 2003).

En el caso de los métodos imitativos, también conocidos como métodos semifundamentales, consisten en sistemas de medición que se emplean para realizar mediciones mecánicas, esto quiere decir que se intenta imitar mecánicamente la evaluación sensorial de los panelistas. El análisis del perfil de textura (TPA) pertenece a esta clasificación (Gunasekaran y Mehmet, 2003).

Las propiedades mecánicas se agrupan como primarias (dureza, cohesividad, viscosidad, elasticidad y adhesividad) y secundarias (fracturabilidad, masticabilidad y gomosidad). Los parámetros que se obtienen a partir de la curva TPA son: dureza, cohesividad, adhesividad, gomosidad, elasticidad y fracturabilidad. A continuación, en el Cuadro 4 se observan las definiciones de

estos términos, así como sus unidades en el Sistema Internacional (SI) (Gunasekaran y Mehmet, 2003).

Cuadro 4. Definición de los términos de textura.

Término	Unidad	Definición	Medición
Dureza	N	Fuerza necesaria para lograr una deformación dada.	Fuerza correspondiente a P1
Cohesividad		Es la razón entre el área de fuerza positiva durante la segunda compresión y el área durante la primera compresión. Es adimensional y un valor igual a uno indica que la muestra se recupera completamente luego de la primera compresión.	$\text{Cohesividad} = \text{Área 2} / \text{Área 1}$
Elasticidad		Distancia recorrida por el émbolo durante la Área negativa de fuerza A3.	$\text{Distancia 2} / \text{Distancia 1}$
Adhesividad	N	Es el área de fuerza negativa en el primer mordisco y representa el trabajo requerido para superar las fuerzas atractivas entre la superficie del alimento y la superficie de otros materiales con los que el alimento entra en contacto.	A3
Fracturabilidad	N	Es el pico inicial de fuerza durante la primera compresión. Se refiere a la dureza con la cual el alimento se desmorona, cruje o revienta. Se expresa en unidades de fuerza.	Fuerza correspondiente a F1
Masticabilidad	N	Energía necesaria para masticar un alimento sólido hasta que esté listo para tragar.	$\text{Dureza} \times \text{Cohesividad} \times \text{Elasticidad}$
Gomosidad	N	Energía necesaria para desintegrar un alimento semisólido hasta que esté listo para tragar.	$\text{Dureza} \times \text{Cohesividad}$

Elaboración propia con información obtenida de: (González et al., 2015; Gunasekaran & Ak, 2002).

2.1.8 Microestructura

Caracterización de la microestructura en queso

Se puede decir que la microestructura del queso es la disposición tridimensional de las micelas de caseína que se unen en bandas y cadenas. Las micelas generan una red proteica viscoelástica, en donde se distribuye la humedad, los glóbulos de grasa, los minerales y las bacterias (Muthukumarappan & Swamy, 2023).

Los diferentes métodos de microscopía se emplean con la finalidad de comprender las relaciones existentes entre las propiedades de textura y los análisis fisicoquímicos. Se emplea la microscopia Confocal de Barrido Laser (CLSM), la microscopia de fluorescencia confocal, microscopia de fuerza atómica (AFM), microscopia Electrónica de Barrido (SEM), microscopia Electrónica de Transmisión (TEM), microscopia de efecto túnel (STM) y microscopía electrónica de etapa fría con fractura por congelación CryoSEM (Everett & Auty, 2017).

En el caso de CLSM muestra el efecto de diferentes métodos de fabricación de queso en las fases de grasa y proteína, así mismo se puede emplear para examinar el relieve de la superficie del queso. Por otro lado, la microscopia de fluorescencia se ha empleado para determinar la importancia de la hidrólisis de la caseína y la grasa en la maduración de los quesos. Mientras tanto, SEM y TEM se pueden emplear para examinar los elementos estructurales a pequeña escala del queso como los microorganismos y la matriz de caseína y, en particular, los cambios que ocurren en la matriz durante el proceso de elaboración y maduración (Everett & Auty, 2017).

CryoSEM ha permitido examinar productos alimenticios que contienen agua sin necesidad de eliminar la fase acuosa, minimizando así la alteración de la estructura durante la etapa de preparación de la muestra. La STM ofrece la ventaja de una alta resolución con un impacto mínimo sobre el material que se examina a partir de la preparación de la muestra; sin embargo, requiere una muestra que sea eléctricamente conductora. La microscopía de fuerza atómica

puede resultar útil para examinar interfaces o planos de fractura dentro del queso que pueden afectar las propiedades funcionales (Everett & Auty, 2017).

2.1.9 Microbiota de los alimentos fermentados

En la industria alimentaria, los microorganismos juegan un papel importante, esto se debe a que se emplean en la producción de varios productos alimenticios y bebidas. Muchos alimentos fermentados ayudan a mejorar la salud gastrointestinal y brindan beneficios a la salud. A través de la fermentación, las comunidades de microorganismo, como es el caso de las bacterias del ácido láctico (BAL), bacilos, hongos filamentosos, levaduras productoras de enzimas y alcohol, adicionan valor a muchos productos que son básicos para el consumo humano, como es el caso de los productos fermentados a base de leche (Gbashi et al., 2023).

2.1.10 Microbiota de la leche

Se considera que los colonizadores microbianos de la leche desempeñan numerosas funciones tanto beneficiosas como perjudiciales. Por ejemplo, el sabor, la textura y las propiedades organolépticas de los productos derivados se ven influenciados por la producción de lactato y la fermentación de la leche cruda (Gbashi et al., 2023).

Las bacterias ácido-lácticas son las que más predominan en la microbiota de la leche, como es el caso de *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* y *Streptococcus*, en un menor porcentaje se encuentran *Pseudomona*, *Hafnia*, *Clostridium*, *Leuconostoc*, *Faecalibacterium*, *Prevotella*, *Acinetobacter* y *Aeromonas spp.* Así mismo, podemos encontrar hongos, levaduras y mohos. En el caso de las levaduras *Candida*, *Trichosporon*, *Geotrichum*, *Rhodotorula*, *Debaryomyces*, *Cryptococcus*, *Pichia* y *Kluyveromyces spp.*; los hongos identificados incluyen *Atrotriquata*, *Torrubiella* y *Malassezia spp.*; y los mohos *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* y *Fusarium spp.* (O'Sullivan & Cotter, 2017).

2.1.11 Microbiota del queso

La microbiota de los quesos de leche cruda proviene no sólo de la leche cruda, sino también de los iniciadores agregados y del medio ambiente (O'Sullivan & Cotter, 2017). Tanto las bacterias, levaduras y mohos, están presentes en el queso durante la maduración. La mayoría de estos contribuyen de manera positiva al proceso de maduración, esto puede ser de manera directa a través de su actividad metabólica o bien mediante la liberación de enzimas en la matriz del queso (Cotter & Beresford, 2017).

Por otro lado, la microbiota asociada a la maduración del queso se puede dividir en dos grupos: las bacterias iniciadoras del ácido láctico (BAL) y la microbiota secundaria. Las BAL iniciadoras (*Lactococcus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* y *Lactobacillus helveticus*) son las que se encargan de la producción de ácido para disminuir el pH de la leche. Mientras tanto la microbiota secundaria está involucrada en conjunto con las BAL en el proceso de maduración (Cotter & Beresford, 2017).

En el caso de la microbiota secundaria se puede dividir en bacterias del ácido láctico no iniciadoras (NSLAB – sus siglas en inglés), éstas consisten en lactobacilos no iniciadores como: *Pediococcus*, *Enterococcus* y *Leuconostoc*; el segundo grupo es conocido como bacterias del ácido propiónico (PAB – siglas en inglés); mohos; bacterias y levaduras que se desarrollan en la superficie de los quesos madurados (Cotter & Beresford, 2017).

2.1.12 Metagenómica

Se considera que la metagenómica se puede utilizar para explicar completamente la comunidad microbiana de muestras ambientales y alimentarias complejas, sin pasar por el cultivo microbiano y otros pasos posteriores del proceso de caracterización morfológica y bioquímica. Con esta herramienta, los investigadores pueden emplear datos metagenómicos para identificar y comprender varias rutas metabólicas de las bacterias que conducen a la formación de ácido láctico, etanol y ácido acético durante la fermentación (Gbashi et al., 2023).

La tecnología de metagenoma se puede clasificar en secuencia metagenómica del amplicón y secuenciación del metagenoma por shotgun. En el caso de la primera se centra en los genes marcadores como al ARNr 16S para bacterias y 28S rRNA para hongos. Estos genes proporcionan una relación filogenética entre las especies y la diversidad de la comunidad (Gbashi et al., 2023). Mientras que la secuenciación del metagenoma por escopeta (shotgun) proporciona una cuantificación relativa de las moléculas de ADN disponibles en la muestra al enumerar el número de lecturas asignadas a cada especie de comunidad microbiana, así mismo, se obtienen genes central que son responsables de reacciones metabólicas, procesos celulares, almacenamiento de información y funciones de procesamiento en productos fermentados, así mismo puede determinar todo tipo de microorganismos, incluidos bacterias, hongos y virus (Gbashi et al., 2023).

Análisis metagenómico de quesos

La secuenciación de alto rendimiento se ha convertido en el método más empleado actualmente para determinar la composición microbiana del queso. Con respecto al estudio de poblaciones microbianas, el uso de esta tecnología facilita la secuenciación de un gen objetivo específico, ya sea el -16S rRNA (bacterias) e ITS (hongos), o bien secuenciar de manera aleatoria el ADN (metatranscriptómica de shotgun), siendo de vital importancia para su posterior análisis bioinformático (Cotter & Beresford, 2017).

2.2 Marco de referencia

2.2.1 Ubicación de Reyes Etlá, Oaxaca

Reyes Etlá es un municipio ubicado en Oaxaca de Juárez, México. Se encuentra entre los paralelos 17°10' y 17°15' de latitud norte; los meridianos 96°48' y 96°51' de longitud oeste; altitud entre 1 600 y 1 800 m (INEGI, 2010).

Colinda al norte con el municipio de Magdalena Apasco; al este con los municipios de Magdalena Apasco y Villa de Etlá; al sur con los municipios de Villa de Etlá, Guadalupe Etlá, Nazareno Etlá y San Andrés Zautla; al oeste con los municipios de San Andrés Zautla y Magdalena Apasco (INEGI, 2010).

2.2.2 Sector económico/social/cultural

La población en Reyes Etlá, en 2020, fue de 4,370 habitantes, donde el 48.2 % representa hombres y el 51.8 % mujeres. Cierta porción de la población de este municipio habla Zapoteco, Mixteco y el Mixe. Por otro lado, en el 2019, los sectores económicos que concentraron más unidades económicas fueron comercio al por menor, industrias manufactureras, servicios de alojamiento temporal y de preparación de alimentos y bebidas (DataMexico, 2022).

La actividad quesera tiene una alta relevancia social y económica. Se considera que alrededor de 50 familias elaboran algún tipo de queso, a distintas escalas de producción (Camacho-Vera et al., 2020). Sin embargo, se presentan problemas con competidores que producen queso de imitación más económicos (El Financiero, 2022). Por lo tanto, en los últimos años, productores de la región y varias instituciones de investigación, han trabajado en conjunto con la finalidad de revalorizar la producción artesanal del quesillo (Domínguez-López et al., 2011).

El quesillo o queso Oaxaca es conocido también como queso de bola, de hebra, oaxaqueño, para deshebrar, trenzado y tropical. Este producto se consume principalmente en quesadillas, tacos, gratinado en enchiladas y solo. Los habitantes de Reyes Etlá ofrecen recorridos que exponen el proceso para la elaboración del quesillo (El Financiero, 2022).

2.3 Bibliografía

- Alais, C. (1996). Ciencia de la leche: Principios de técnica lechera. CECSA.
- Camacho-Vera, J., Cervantes-Escoto, F., & Palacios-Rangel, M. (2020). Historia y raíces territoriales de un sistema artesanal: la producción de queso en Reyes Etlá, Oaxaca. *Estudios Sociales. Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo Regional*, 30(55), e20836.
- Caro, I., Quinto, E. J., Fuentes, L., Alessandria, V., Cocolin, L. S., Redondo-del-Río, M. P., Mayo, B., Flórez, A. B., & Mateo, J. (2020). Characterization of *Lactococcus* strains isolated from artisanal Oaxaca cheese. *LWT*, 122, 109041. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109041>
- Cervantes, F., Villegas, A., Cesín, A., & Espinoza, A. (2008). Los Quesos Mexicanos Genuinos: Patrimonio cultural que debe rescatarse. Mundi-Prensa.
- Colín-Cruz, M. de L. Á., Dublán-García, O., Espinoza-Ortega, A., & Dominguez-Lopez, A. (2012). The effect of varying fat content on the microstructure of Oaxaca cheese, a typical pasta filata cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 65(1), 71–80. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2011.00735.x>
- Correia Gonçalves, M., & Cardarelli, H. R. (2021). Mozzarella Cheese Stretching: A Review. *Food Technology and Biotechnology*, 59(1), 82–91. <https://doi.org/10.17113/ftb.59.01.21.6707>
- Cotter, P. D., & Beresford, T. P. (2017). Chapter 15 - Microbiome Changes During Ripening. In P. L. H. McSweeney, P. F. Fox, P. D. Cotter, & D. W. Everett (Eds.), *Cheese (Fourth Edition)* (Fourth Edition, pp. 389–409). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00015-6>
- DataMexico. (2022). Reyes Etlá. <https://www.economia.gob.mx/datamexico/es/profile/geo/reyes-etla>
- De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2011). Cheese | Pasta-Filata Cheeses: Traditional Pasta-Filata Cheese. In J. W. Fuquay (Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)* (Second Edition, pp. 745–752). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00512-4>
- Domínguez-López, A., Villanueva-Carvajal, A., Arriaga-Jordán, C., & Espinoza-Ortega, A. (2011). Alimentos artesanales y tradicionales: el queso Oaxaca como un caso de estudio del centro de México. *Estudios Sociales (Hermosillo, Son.)*, 19(38), 165–193.
- El Financiero. (2022). ¿Cómo nació el queso Oaxaca? Esta es la historia del quesillo. <https://www.elfinanciero.com.mx/food-and-drink/2022/10/15/historia-y-origen-del-queso-oaxaca-o-quesillo/>.

- Escobedo-Avellaneda, Z., Espiricueta-Candelaria, R. S., Calvo-Segura, S., Welti-Chanes, J., & Chuck-Hernández, C. (2021). Changes induced by high hydrostatic pressure in acidified and non-acidified milk during Oaxaca cheese production. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(9), 4639–4649. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ijfs.15134>
- Everett, D. W., & Auty, M. A. E. (2017). Chapter 21 - Cheese Microstructure1. In P. L. H. McSweeney, P. F. Fox, P. D. Cotter, & D. W. Everett (Eds.), *Cheese (Fourth Edition)* (Fourth Edition, pp. 547–569). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00021-1>
- Faccia, M., Gammariello, D., Conte, A., & Nobile, M. A. Del. (2013). 17. Pasta filata cheese: advances in processing and preservation. In *Handbook of cheese in health* (Vol. 6, pp. 251–260). https://doi.org/10.3920/978-90-8686-766-0_17
- Fox, P. F., & Guinee, T. P. (2013). Cheese Science and Technology. In *Milk and Dairy Products in Human Nutrition* (pp. 357–389). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781118534168.ch17>
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. H. (2017). Processed Cheese and Substitute/Imitation Cheese Products. In *Fundamentals of Cheese Science* (pp. 589–627). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9_17
- Fox, P. F., & McSweeney, P. L. H. (2017). Chapter 1 - Cheese: An Overview. In P. L. H. McSweeney, P. F. Fox, P. D. Cotter, & D. W. Everett (Eds.), *Cheese (Fourth Edition)* (Fourth Edition, pp. 5–21). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00001-6>
- Freitas, A. C., Rodrigues, D., Duarte, A. C., & Gomes, A. M. (2013). 4. The principals of cheese making: an overview. In *Handbook of cheese in health* (Vol. 6, pp. 53–72). https://doi.org/10.3920/978-90-8686-766-0_4
- Gbashi, S., Tebele, S. M., & Njobeh, P. B. (2023). Chapter 21 - Metagenomics for the identification and characterization of microorganisms in fermented foods. In O. A. Adebo, C. E. Chinma, A. O. Obadina, A. G. Soares, S. K. Panda, & R.-Y. Gan (Eds.), *Indigenous Fermented Foods for the Tropics* (pp. 347–359). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-323-98341-9.00021-9>
- González, A., Alvis, A., & Arrázola, G. (2015). Effect of Edible Coating on the Properties of Sweet Potato Slices (*Ipomoea Batatas* Lam) Cooked by Deep-Fat Frying: Part 1: Texture. *Información Tecnológica*, 26(1), 95–102.
- Gunasekaran, S., & Ak, M. M. (2002). *Cheese Rheology and Texture* (1st ed.). CRC Press.
- Hayaloglu, A. A. (2016). Cheese: Microbiology of Cheese. In *Reference Module in Food Science*. Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00675-2>

- INEGI. (2010). Compendio de información geográfica municipal 2010. https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/20/20077.pdf.
- Kindstedt, P. S. (2002). CHEESE | Pasta-Filata Cheeses. In H. Roginski (Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 386–391). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227235-8/00079-1>
- Legg, A. K., Carr, A. J., Bennett, R. J., & Johnston, K. A. (2017). Chapter 26 - General Aspects of Cheese Technology. In P. L. H. McSweeney, P. F. Fox, P. D. Cotter, & D. W. Everett (Eds.), *Cheese (Fourth Edition)* (Fourth Edition, pp. 643–675). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00026-0>
- Licitra, G. (2010). Worldwide traditional cheeses: Banned for business? *Dairy Science & Technology*, 90(4), 357–374. <https://doi.org/10.1051/dst/2010016>
- Márquez, L. (2015). Inocuidad y vida de anaquel del quesillo de Reyes Elta, Oaxaca [Maestría]. Universidad Autónoma Chapingo.
- McMahon, D. J., & Oberg, C. J. (2017). Chapter 40 - Pasta-Filata Cheeses. In P. L. H. McSweeney, P. F. Fox, P. D. Cotter, & D. W. Everett (Eds.), *Cheese (Fourth Edition)* (Fourth Edition, pp. 1041–1068). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00040-5>
- Minervini, F., Costantino, G., & De Angelis, M. (2022). Pasta Filata Cheeses: Traditional Pasta Filata Cheese. In P. L. H. McSweeney & J. P. McNamara (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences (Third Edition)* (Third Edition, pp. 274–280). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00273-7>
- Muthukumarappan, K., & Swamy, G. J. (2023). Chapter 11 - Rheology, microstructure, and functionality of cheese. In J. Ahmed & S. Basu (Eds.), *Advances in Food Rheology and Its Applications (Second Edition)* (Second Edition, pp. 297–334). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823983-4.00007-8>
- NOM-243-SSA1-2010. (n.d.). Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
- O'Sullivan, O., & Cotter, P. D. (2017). Chapter 12 - Microbiota of Raw Milk and Raw Milk Cheeses. In P. L. H. McSweeney, P. F. Fox, P. D. Cotter, & D. W. Everett (Eds.), *Cheese (Fourth Edition)* (Fourth Edition, pp. 301–316). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00012-0>
- Villegas, A., & Huerta, R. (2015). Naturaleza, evolución, contrastes e implicaciones de las imitaciones de quesos mexicanos genuinos. *Estudios Sociales (Hermosillo, Son.)*, 23(45), 213–236.

- Villegas, A., Lozano, O., & Cervantes, F. (2015). Valorización de los quesos mexicanos genuinos. Biblioteca Básica de Agricultura.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M., & Geurts, T. J. (2005). Dairy Science and Technology (2nd ed.). CRC Press.

3 EL SISTEMA AGROINDUSTRIAL DEL QUESILLO DE REYES ETLA, OAXACA Y SU PROCESO DE ELABORACIÓN

3.1 Resumen

El quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca es un queso fresco de pasta filata. Se elabora a partir de leche cruda de vaca. Por otro lado, se entiende como sistema agroindustrial (SAI) al conjunto de unidades productivas de un insumo agropecuario, en un espacio geográfico y tiempo determinado. El SAI está integrado por el eslabón primario, secundario, terciario, así como los agentes de soporte. Por lo mencionado anteriormente, se realizó el estudio del Sistema agroindustrial leche – quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca, con el fin de estudiar cómo ha ido cambiando el sistema producto durante los últimos años. Por lo que se realizó una revisión documental de estudios previos del sistema. Se puede decir que el sistema leche – quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca, ha cambiado en los últimos años, en el caso del eslabón primario se perdieron los subsidios y apoyos por parte del gobierno. Por otro lado, la materia prima (leche cruda de vaca) ha ido disminuyendo en la zona, provocando su adquisición de ésta en los estados de Veracruz y Puebla, e incluso en algunos casos se ha sustituido parcial o completamente la leche con leche en polvo. La elaboración del quesillo ya no se considera como la actividad primaria para el sustento de muchas familias, siendo la escasez de materia prima, el tiempo y el esfuerzo para su elaboración las principales causales. Además, se observó una disminución de los agentes de soporte (instituciones de investigación y secretarías de gobierno), esto a raíz de la pandemia del Covid 2019. A pesar de todos los problemas mencionados, la mayoría de los queseros continúan elaborando el quesillo de manera artesanal y genuina. Esperando el reconocimiento y protección del saber – hacer del producto.

Palabras clave

Quesillo, Sistema agroindustrial, leche, queseros, saber – hacer.

THE AGROINDUSTRIAL SYSTEM OF QUESILLO DE REYES ETLA, OAXACA AND ITS PREPARATION PROCESS

Abstract

Quesillo from Reyes Etlá, Oaxaca is a fresh filata paste cheese. It is made from raw cow's milk. On the other hand, an agro-industrial system (AIS) is understood as the set of productive units of an agricultural input, in each geographic space and time. The AIS is made up of the primary, secondary, and tertiary sectors, as well as the support agents. Due to the, the study of the milk-cheese agro-industrial system of Reyes Etlá, Oaxaca, was carried out to study how the product system has been changing in recent years. Therefore, a documentary review of previous studies of the system was carried out. It can be said that the milk – cheese system of Reyes Etlá, Oaxaca, has changed in recent years; in the case of the primary sector, subsidies and support from the government were lost. On the other hand, the raw material (raw cow's milk) has been decreasing in the area, causing its acquisition in the states of Veracruz and Puebla, and even in some cases the milk has been partially or completely replaced with milk powder. The production of cheese is no longer considered the primary activity for the sustenance of many families, with the shortage of raw materials, time and effort for its production being the main causes. In addition, a decrease in support agents (research institutions and government secretaries) was observed, this because of the Covid 2019 pandemic. Despite all the problems mentioned, the majority of cheese makers continue to make cheese in a traditional way. artisanal and genuine. Waiting for the recognition and protection of the know-how of the product.

Key words

Quesillo, agro-industrial system, milk, cheese makers, know – how.

Thesis of Master Science, Program of Agro-Food Science and Technology, Universidad Autónoma Chapingo

Author: Lissette Peralta Flores

Thesis Director: Ofelia Sandoval Castilla, Dra.

3.2 Introducción

Los sistemas alimentarios reflejan las influencias sociales y económicas predominantes en todo el mundo, y se desarrollan, administran y promueven por instituciones económicas de las naciones industrializadas (Tansey & Worsley, 1995). Por otro lado, se entiende como sistema alimentario a todos los elementos (medio ambiente, personas, insumos) y actividades que tienen una relación con la producción, procesamiento, distribución, preparación y consumo de los alimentos (UNEP et al., 2023). Tansey y Worsley, (1995) mencionan que el sistema alimentario vincula tres aspectos diferentes de la vida: el biológico, económico y político, y el social y cultural. En el caso del biológico hace referencia a los procesos vivos que son utilizados para la producción de alimentos; en el económico y político señala al poder y control que diferentes grupos ejercen sobre las diferentes partes del sistema; por último, el social y cultural sugiere las relaciones personales, los valores comunitarios y las tradiciones culturales que tienen efecto en el uso de los alimentos por parte de las personas (Tansey & Worsley, 1995).

Por otro lado, se entiende como sistema agroindustrial (SAI) a un conjunto de unidades productivas con materia agropecuaria dada y sus productos, en un espacio geográfico y tiempo determinado (Villegas et al., 2021). Un SAI está conformado por un eslabón primario, secundario y terciario, delimitados por una frontera, así como un entorno. El eslabón primario se encuentra integrado por todos los productores primarios, agrícolas y pecuarios, en el segundo se encuentran las empresas, de distinto tamaño, que transforman la materia prima; y, por último, el eslabón terciario está conformado por los agentes de distribución del producto final. Por otra parte, los agentes de cada eslabón del sistema se encuentran vinculados en un arreglo de cadena, donde se establecen relaciones, ya sean económicas, sociales y de intercambio no comercial (Villegas et al., 2021).

En México, los quesos mexicanos genuinos, la mayoría de ellos, se elaboran por la industria artesanal, los cuales tienen prestigio y un aprecio por su origen,

genuinidad y sus características sensoriales. Por lo tanto, Villegas & Cervantes, (2018) mencionan que el estudio de un queso tradicional mexicano debe abordar la calidad del producto, esto hace referencia a sus diferentes propiedades como: nutricionales, químicas, sanitarias, sensoriales, entre otras, así como considerar la calidad de materia prima que da origen, su proceso, su comercialización y las relaciones existentes entre los integrantes de la cadena agroalimentaria del queso.

El queso Oaxaca es uno de los quesos más consumidos en México. Se elabora en varios estados de la República. El nombre del queso es dado por el estado de Oaxaca, ya que es considerado como su probable lugar de origen. Pero en este estado es conocido como quesillo o queso de bola. Este queso puede clasificarse como fresco, de pasta filata, elaborado a partir de leche cruda de vaca, y se comercializa en forma de madeja (Villegas et al., 2014).

En este trabajo se realizó el estudio del Sistema agroindustrial leche – quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca, esto con el objetivo de estudiar cómo ha ido cambiando el sistema producto durante los últimos años, y comparar sus avances tecnológicos y las relaciones que hay entre los diferentes eslabones que conforman al sistema.

3.3 Materiales y métodos

Se realizó una revisión documental para saber cómo ha ido cambiado el Sistema agroindustrial leche – quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca en los últimos años.

3.4 Resultados y discusión

3.4.1 Historia

Se dice que el quesillo surgió debido a “Leobarda Castellanos García”, una niña de 14 años, quien un día se encontraba cuidando el cuajado de la leche para convertirla en queso, pero dejó la mezcla más tiempo de lo requerido, provocando que el cuajado se pasará de su punto, lo cual lo trató de remediar agregándoles

agua caliente, lo que generó una masa chiclosa de color blanca a la cual se le nombró “quesillo” (El Financiero, 2022).

3.4.2 El Sistema Agroindustrial Leche – Quesillo

De acuerdo con las investigaciones realizadas sobre el Sistema Agroindustrial Leche – Quesillo (Camarillo & Martínez, 2023; Márquez, 2015; López, 2013), se encontró que el Sistema está integrado por los tres sectores: el primario (ganaderos), el secundario (quesero) y el terciario (comerciantes), por lo tanto, se considera como un sistema abierto, así mismo, la relación existente entre las queserías con el eslabón primario es coordinada y / o integrada. Por otro lado, no existen intermediarios entre el eslabón primario y secundario (v.g. boteros). Además, se considera que es una producción estabulada, debido a esto, se requiere la producción de forrajes, esta es llevada a cabo por los propios lecheros (Camarillo & Martínez, 2023; Márquez, 2015; López, 2013).

Por otro lado, a principios de la década, hubo un incremento en la interacción entre los productores de quesillo y los agentes de soporte, como destacable se tenían a las instituciones de educación superior (v.g. Universidad Autónoma Chapingo y Universidad Autónoma del Estado de México), con las que se buscaba el reconocimiento y la valorización del producto por parte del consumidor y las instituciones gubernamentales (Márquez, 2015). Sin embargo, durante los últimos años se ha visto una disminución en esta interacción (agente de soporte – productor de quesillo) debido a la pandemia de Covid – 19 (Camarillo & Martínez, 2023).

Por otro parte, en 2014 la SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación), ahora, SADER (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural), tenía un programa de apoyo a la producción pecuaria (PROGRAN) y la Secretaría de Economía brindaba equipo como apoyo al sector secundario (Márquez, 2015). Sin embargo, los apoyos mencionados anteriormente se detuvieron debido a la pandemia (Camarillo & Martínez, 2023).

En el caso del exterior de la frontera se encuentran los proveedores tanto para producción primaria (veterinarias, vendedores de alimentos balanceados y fertilizantes) como los proveedores de insumos (sal, cuajo, etc.) (Camarillo & Martínez, 2023; Márquez, 2015). En este caso, no se han reportado cambios, por lo que la relación entre estos proveedores y los productores de leche y quesillo, continua.

Por otro lado, la venta del quesillo se realizaba en el mercado local o clientes específicos. En ocasiones, se realizaban envíos de quesillo a la Ciudad de México y Monterrey, Nuevo León, otros entregaban el quesillo a intermediarios (Márquez, 2015). Sin embargo, a raíz de la pandemia, hubo un cambio en la comercialización, ésta se vio afectada, por lo tanto, la venta del producto ha sido de manera local, ya sea de manera directa o por intermediarios (Camarillo & Martínez, 2023).

A continuación, se observan las representaciones del Sistema Agroindustrial Leche – quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca.

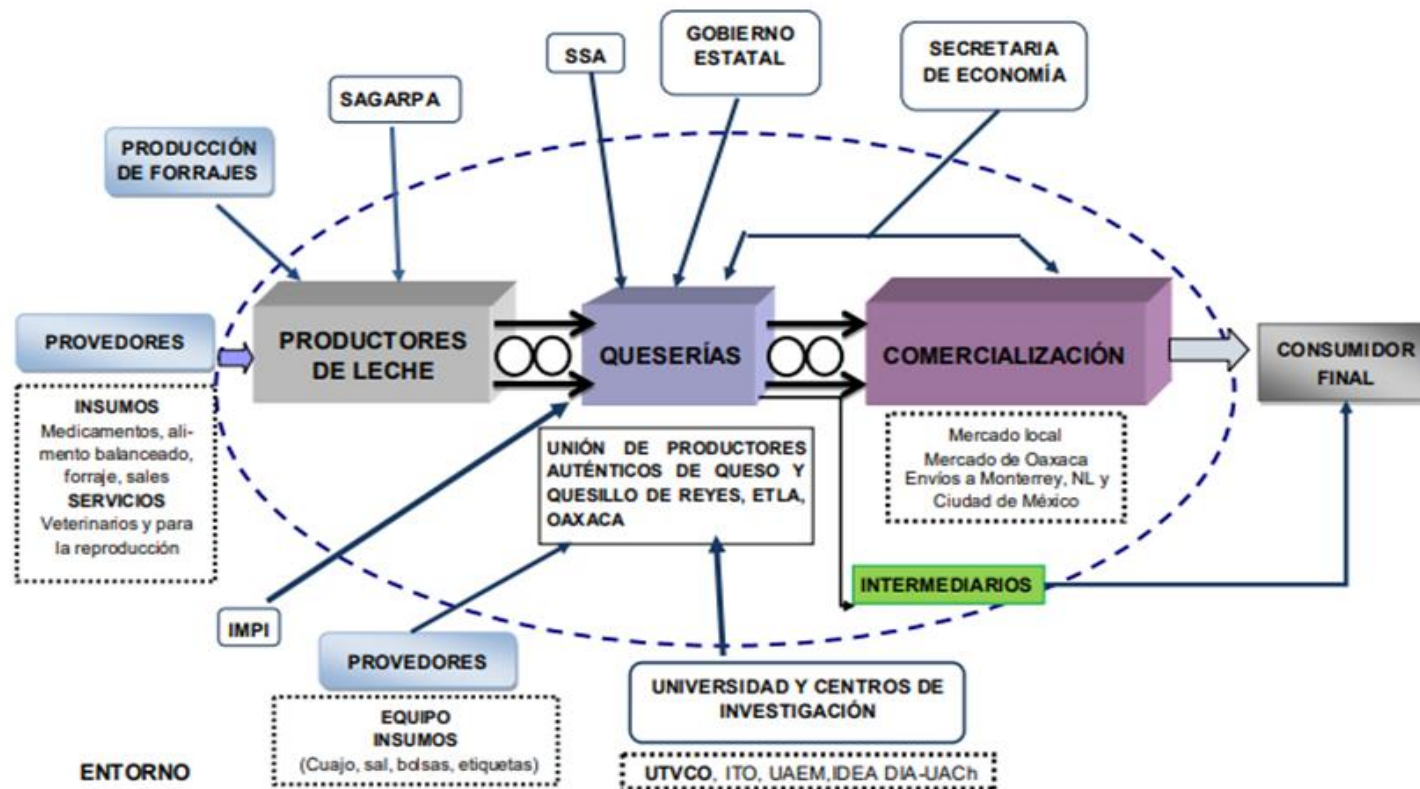


Figura 3. Representación del Sistema Agroindustrial Leche - Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca de 2015.
Fuente: Márquez (2015).

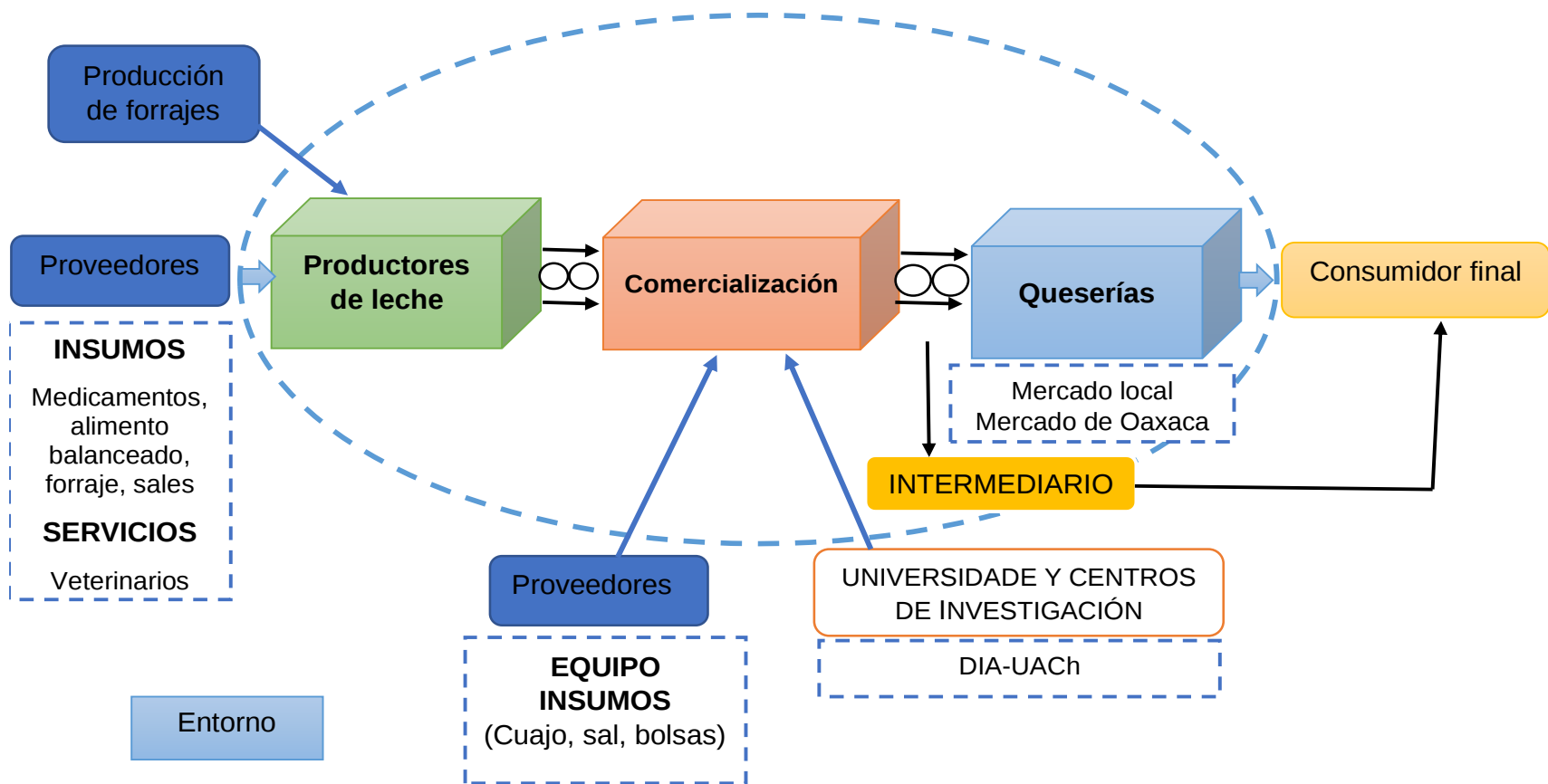


Figura 4. Representación del Sistema Agroindustrial Leche - Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca de 2022.
Fuente: Camarillo & Martínez (2023).

Se observó el SAI de Leche – Quesillo de Reyes, Etlá, Oaxaca de 2015 (Figura 3), y en la Figura 4 el SAI del 2023. Durante un periodo de casi 10 años ha habido cambios en este sistema, como es el caso de la disminución de los actores de soporte, así como la escasa participación de “La unión de productores auténticos de queso y quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca”. Por otra parte, se ha reducido la comercialización del producto final, pasó de ser nacional a local.

Sistema de producción de Leche

En los estudios realizados, concuerdan que el eslabón primario se encuentra conformado por los productores de leche. En el Cuadro 5 se observa la información retomada de trabajos previos (2015 y 2023) sobre las principales características de las unidades productoras de leche en Reyes Etlá, Oaxaca. En el caso del ganado, las razas empujadas son la holstein, jersey y pardo suizo.

Cuadro 5. Principales características de las unidades productoras de leche en Reyes Etlá, Oaxaca de 2015 y 2023.

Característica	Unidades lecheras 2015			Unidades lecheras 2023		
	Intervalo	%	Media	Intervalo	%	Media
Cantidad de vacas (cabezas)	4 - 18	N. A.	10.33 ± 4.84	4 - 12	N. A.	7.63 ± 2.88
	N. A.	N. A.		N. A.	N. A.	
Número de vacas en ordeño	4 - 9	N. A.	5.67 ± 2.25	3 - 11	N.A.	5.38 ± 2.56
	N. A.	N. A.		N.A.	N.A.	
Tipo de ordeño	Mecánico	33.33	N. A.	Mecánico	25	N.A.
	Manual	66.67		Manual	75	
Ordeños por día	2	N. A.	2	2	N. A.	2
	N. A.	N. A.		N. A.	N. A.	
Producción diaria / vaca (L / vaca)	10 - 18	N. A.	13.33 ± 3.44	12 - 17	N.A.	14.67 ± 1.75
	N. A.	N. A.		N.A.	N.A.	
Pruebas de detección de mastitis	Inspección visual	83.33	N. A.	Inspección visual	87.5	N.A.
	Prueba de california	16.67		Prueba california	12.5	
Sellado	Si	83.33	N. A.	Si	62.5	N.A.
	No	16.67		No	37.5	

Elaboración propia, con información obtenida de: Camarillo & Martínez (2023); Márquez (2015).

Conforme al Cuadro 5 se pudo observar que no ha habido cambios ($p > 0.05$) en la cantidad de cabezas de ganado que tienen los productores de leche, así mismo, el número de vacas en ordeño no ha variado ($p > 0.05$) durante un periodo de ocho años aproximadamente, por otro lado, la producción diaria por cada vaca no hubo un cambio significativo ($p > 0.05$). En el caso de la práctica del sellado se observó una disminución de productores que la realizan.

Se considera que la explotación lechera es familiar y de traspato, así mismo, su crecimiento se ve limitado debido al pequeño espacio con el que cuentan en sus casas. Por otro lado, aún no hay un control de tuberculosis y brucelosis para verificar la sanidad del hato. Cada tres meses se realiza la desparasitación del hato, ocasionalmente se aplican desparasitantes, y en caso de mastitis se trata con antibiótico mediante el asesoramiento del veterinario.

En 2014 el costo por litro de leche era de \$ 7.50 (Márquez, 2015), en 2017 era de \$ 7.70 y en 2022 de \$ 10 (Camarillo & Martínez, 2023), a pesar de que ha habido un aumento en el costo de leche, para los ganaderos aún es bajo para poder cubrir los costos de producción.

La actividad quesera

En el Cuadro 6 se mencionan algunas características importantes de producción en queserías. Anteriormente, el 63 % de la leche se destinaba para la producción del queso, y lo restante se vendía a los queseros de la unión. En la actualidad el 100 % de la leche se destina para queso, aproximadamente el 40 % para la elaboración de quesillo y el 60 % de queso fresco (Rodríguez, 2017), en algunos casos, ésta se vende a los vecinos. Por otro lado, aún no se implementan las pruebas de calidad a la leche.

Cuadro 6. Principales características de los queseros en Reyes Etlá, Oaxaca de 2015 y 2023.

Característica	Producción de quesillo 2014			Producción de quesillo 2022		
	Intervalo	%	media	Intervalo	%	media
Antigüedad de producción (años)	8 - 21	25	30.8 ± 12.4	2 - 15	50	18.9 ± 15.19
	22 - 34	25		16 - 35	40	
	35 - 47	50		36 - 48	10	
Litros procesados por día	40 - 227	62	258.1 ± 230.4	50 - 200	40	501.0 ± 680.68
	228 - 414	13		201 - 305	30	
	415 - 601	25		351 - 2000	30	
Precio de la leche (\$ / L)	7	87.5	77.5 ± 0.2	10	100	10+0.00
	7.5	12.5				
Proveedores de leche	1 - 4	75	3.9 ± 4.3	0 - 3	60	2.6 ± 2.99
	9 - 12	25		4 - 6	40	
Abastecimiento de leche	Autoabastecimiento	25	N.A.	Autoabastecimiento	50	N.A.
	Compra el 100 %	50		Compra el 100 %	30	
Relación con el eslabón primario	Ambas	25	N.A.	Ambas	20	N.A.
	Coordinado	62.5		Coordinado	40	
	Integrado	25		Integrado	40	
	Ambos	12.5		Ambos	20	
Prueba de calidad (leche)	Rendimiento quesero	25	N.A.	Acidez	10	N.A.
	Ninguno	75		Ninguno	90	
Productos elaborados por quesería	Queso fresco	100	N.A.	Queso fresco	100	N.A.
	Quesillo	100		Quesillo	80	
	Requesón	50		Requesón	60	
	Botanero	37.5		Botanero	10	
	Crema	25		Crema	30	
	Mantequilla	12.5		Mantequilla	40	
Frecuencia semanal de producción de quesillo	Yogur	25	N.A.	1 - 2	20	N.A.
	7	50				
	3	25				
	2	25				
	Por pedido	100				
				Por pedido	100	

Elaboración propia. Información obtenida de: Camarillo & Martínez (2023); Márquez (2015).

Durante las diferentes investigaciones realizadas en la zona, se ha observado que los pequeños queseros no emplean instrumentos de medición para verificar la calidad de la leche, pero mencionan que el principal problema que enfrentan es la adición de agua a la leche, esto se ve reflejado en el rendimiento quesero.

Por otro lado, no se han observado intermediarios entre los productores de queso y los ganaderos; sin embargo, Márquez (2015) y Rodríguez (2017), refieren que llega un camión proveniente de Veracruz, que se encarga de abastecer de leche a algunos productores. Se menciona que la mayoría busca leche la región, esto se debe a que ellos consideran que le brinda características sensoriales únicas al producto. Por otro lado, actualmente, debido a la escases de leche, ha ocasionado su compra proveniente de Puebla. Así mismo, los queseros que procesan volúmenes de leche elevados afirman que llega una pipa de leche proveniente de Puebla, de la cual desconocen de donde viene exactamente.

Anteriormente, el 100 % de queserías se dedicaban a la elaboración del quesillo genuino, esto quiere decir leche pura, sin extensores, ni adulterantes (v.g. almidón y grasa vegetal). Sin embargo, recientemente, ha disminuido el porcentaje de queserías que se dedican a la elaboración de este queso, esto se debe a que algunas, mezclan leche fluida con polvo e incluso se realiza la formulación del queso empleando leche en polvo, grasa vegetal, crema, conservadores y retenedores de humedad.

La actividad del quesillo ha cambiado en los últimos años, ya que anteriormente era la actividad principal o la única fuente de ingresos para las familias, pero en los últimos años, se ha observado que esta actividad se convirtió en segunda, debido a la demanda de tiempo y esfuerzo, pero a pesar de eso, sigue siendo una actividad económica importante en la región.

A continuación, en el Cuadro 7, se observan algunas de las características de la mano de obra en queserías de quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca. En las queserías se emplean dos personas para la elaboración del queso. Por otro lado, el 80 % es producción familiar.

Cuadro 7. Características sobre la mano de obra en queserías de quesillo de Reyes Etla, Oaxaca.

Característica	SAI 2015			SAI 2023		
	Intervalo	%	Media	Intervalo	%	Media
Personal ocupado	1 - 4	75	3.5±2.1	1 - 2	70	2.4 ± 1.07
	5 - 7	25	N. A.	3 - 5	30	N. A.
Mano de obra	Familiar	75	N. A.	Familiar	80	N. A.
	Asalariada (contrato verbal)	25	N. A.	Asalariada (contrato verbal)	20	N. A.
Aprendizaje de la técnica	Saber - hacer (herencia familiar)	87.5	N. A.	Saber - hacer (herencia familiar)	90	N. A.
	A prueba y error	12.5	N. A.	A prueba y error	10	N. A.
Sucesor	Ninguno	25	N. A.	No	80	N. A.
	Hijos y / o hermanos	75	N. A.	Si	20	N. A.

Fuente: elaboración propia con datos de: Camarillo & Martínez (2023); Márquez (2015).

Por otro lado, el aprendizaje de la técnica ha sido en su mayoría por herencia familiar y en una menor proporción de manera empírica. Así mismo, anteriormente los queseros consideraban (75 %) que se continuaría con la elaboración del quesillo, pero ahora, el 80 % no cuenta con un sucesor para la continuidad del saber – hacer del quesillo.

En el caso del grado de tecnificación de las queserías, es mínima, esto se debe a que los productores emplean tinas de plástico para realizar el cuajado, la fermentación y el malaxado de la cuajada. Para el cortado emplean palas de madera y / o plástico.

Comercialización

Anteriormente, la venta del quesillo se realizaba de manera directa al minorista y al consumidor final, posteriormente, predomina la venta a vendedor ambulante y la venta directa en mercado o al consumidor. Así mismo, se empleaba la venta a crédito, la cual no se tenía un contrato, sólo era una relación de confianza que existía entre quesero y cliente. Por otro lado, el destino final del producto no sólo era local, sino algunos enviaban quesillo a la Ciudad de México, Monterrey y Nuevo León. Actualmente, la comercialización que más predomina es la directa, pero aún sigue habiendo queseros que emplean intermediarios, la relación con

estos se basa en confianza que se ha construido con el paso de los años. El destino del quesillo es local y pago al contado. El precio del quesillo es de \$ 150.00 el kilogramo.

3.4.3 Análisis del sistema agroindustrial

Grado de tecnificación

En el caso del grado de tecnificación en la elaboración del quesillo en Reyes Etlá, Oaxaca, sigue siendo bajo, esto se debe al bajo volumen de leche que procesan. Así mismo, emplean los conocimientos adquiridos para determinar los puntos importantes de la elaboración del quesillo. Los únicos cambios significativos que se han observado es el empleo de básculas eléctricas o manuales, refrigeración para almacenar el queso y el uso de descremadoras mecánicas (v.g. los queseros que elaboran mantequilla).

Acceso a paquetes tecnológicos

En el caso del sector primario (ganaderos), sólo los que pertenecen a la Unión de Productores Auténticos de Queso y Quesillo de Reyes Etlá S. A de C. V., se han visto beneficiados por apoyos, ya sea en equipos o por asesorías por parte de veterinarios, pero a pesar de eso, no existe un programa que se encargue de monitorear la brucelosis o tuberculosis. En el caso de equipos, no los emplean, ya que mencionan que es muy poco su volumen de producción para su empleo. A pesar de eso, hay uso de vitaminas, vacunas, desparasitaciones e inseminaciones artificiales en el hato lechero. En el caso de la mastitis, su detección es de manera empírica, los ganaderos se dan cuenta en la ubre o al ordeñar, por lo tanto, se le aplica antibiótico recetado por el veterinario, y no se emplea la leche de esa vaca. Por otro lado, se ha visto que no hay organización por parte de los ganaderos, esto hace difícil la obtención de apoyos.

A raíz de la pandemia se ha visto una nula vinculación entre agentes de soporte del gobierno con ganaderos, así mismo, se ha mostrado una baja vinculación con centros de investigación. Por otro lado, se menciona que el principal problema que enfrentan es la eliminación del subsidio del agua para riego de sus parcelas,

ya que muchos de ellos, se encargan de producir el alimento para su ganado, como es el caso del ensilado.

En el caso del sector secundario (productores de queso y quesillo), se ha observado que aún no hay una buena organización y relación entre los queseros pertenecientes a la Unión de Productores Auténticos de Queso y Quesillo de Reyes Etlá S. A de C. V. A raíz de la pandemia del Covid 19, se detuvo todo tipo de interacciones, proyectos y apoyos por parte de autoridades municipales y del estado.

La genuinidad y la tipicidad del quesillo de Reyes, Etlá

En los últimos años, ha crecido la demanda de alimentos tradicionales, ya que los consumidores los consideran “naturales”, “típicos”, “locales”, “caseros”, “artesanales”, “de origen” (Champredonde, 2016; Settanni & Moschetti, 2014). Debido a esto, le da una identidad a la comida, lo que genera cierta familiaridad. Todos estos aspectos ayudan a la creación de tradición de un alimento, por lo tanto, proporciona una percepción de calidad y legitimidad a los consumidores, incluso si no los han probado aún (Settanni & Moschetti, 2014). Por lo tanto, también los instrumentos e instalaciones en donde se elabora el alimento adquieren un valor simbólico (Champredonde, 2016).

Champredonde (2016) define a la tipicidad como “la presencia de una calidad específica en el alimento, cuando ésta resulta de las particularidades de las materias primas y de la incidencia de prácticas y conocimiento (saberes) propios a la cultura del grupo humano de referencia”. Por otro lado, habla sobre la tipicidad territorial, la cual es la resultante tanto de factores territoriales, como ambientales y humanos (Champredonde, 2016).

En el caso de un queso genuino artesanal, se pueden incorporar otros elementos que se encuentran en el territorio como el saber – hacer, este genera propiedades organolépticas específicas, así como una determinada calidad, que es intransferible. También, la calidad de leche y la microflora láctica que se hayan vinculadas a los recursos naturales. Por lo tanto, se da origen a bienes

patrimoniales, como, paisajes, cultural, la organización social, entre otros (Villegas & Cervantes, 2011).

Por lo tanto, los rasgos de tipicidad que se han percibido en el auténtico quesillo de Reyes Etla, Oaxaca, son los siguientes (Márquez, 2015):

- La leche empleada para su elaboración, ya que se emplea ganado rústico.
- El uso de leche cruda.
- La adición de un cultivo láctico rústico.
- Producción limitada.
- La forma del quesillo, ya que es un queso cuasi – esférico, donde las correas dan un parecido al capullo de una flor.
- Los sabores propios, típicos, que son ligeramente fuertes debido a la pasta fermentada por la microflora láctica.

Así mismo, la microflora presente en el quesillo da como resultado características, que refleja tanto al entorno como a la forma de su elaboración. Por otro lado, Settanni et al. (2012), mencionan que los productos están vinculados a algunas áreas, esto se debe a las tradiciones que se transmiten de generación en generación, así como a la presencia de especies y cepas microbianas que se encuentran en el ambiente y el equipo empleado durante el proceso de elaboración, lo que contribuye a la identidad de un determinado alimento.

No sólo es lo mencionado con anterioridad, sino también lo que simboliza desde el punto de vista sociocultural tanto para los productores como los consumidores, que en conjunto logran que el sistema leche – quesillo sea factor de desarrollo socioeconómico en la región. Por lo tanto, se puede decir que este queso es irreproducible, ya que es el resultado del contexto físico – ambiental, económico, social y cultural (Camarillo & Martínez, 2023).

3.4.4 Elementos para un análisis FODA

A continuación, se mencionan algunos de los elementos encontrados de Fortalezas, Oportunidades, Desventajas y Amenazas en el sistema leche – quesillo en Reyes Etlá, Oaxaca (Camarillo & Martínez, 2023).

Fortalezas

- La historia del queso, ya que durante 140 años se ha estado elaborando.
- Hay una articulación establecida entre productores de leche y queso (coordinada e integrada).
- Se conoce su valor histórico y calidad del queso por parte de los queseros.

Oportunidades

- Se considera que el quesillo es de los quesos más producidos y consumidos en el país.
- La demanda por productos tradicionales y genuinos ha ido incrementando, por lo tanto, hay un aumento en la revalorización de este tipo de alimentos.

Debilidades

- Falta de toma de datos durante el proceso del quesillo.
- No hay controles de calidad tanto en la leche como en la elaboración del queso.
- No hay implementación de las buenas prácticas de manufactura.
- Existe una heterogeneidad en la calidad y características sensoriales del quesillo dentro y entre queserías.
- Escases de leche.
- La pandemia del Covid 19 provocó la suspensión de apoyos por parte del gobierno. Así mismo, la difusión y conocimiento del quesillo.

Amenazas

- Incumplimiento con la NOM – 243 – SSA1 – 2010. Por el uso de leche cruda.
- Posibilidad de presencia de microorganismos patógenos en el producto.
- Quesos de imitación o tipo Oaxaca ofrecidos como quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca.
- Falta de organización entre lecheros y queseros.

Se han planteado como estrategias

- Difundir la historia y proceso de elaboración del quesillo.
- Difundir estudios de quesos de leche cruda típicos y genuinos que demuestren que el producto es inocuo.
- Realizar la homogeneidad del proceso de producción en cada quesería, así como, la estandarización de la materia prima.
- Implementar buenas prácticas de manufactura.
- Buscar apoyos en el gobierno.

3.5 Conclusiones

Al realizar la revisión bibliográfica de trabajos previos sobre el sistema leche – quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca. Se pudo observar que el sistema ha cambiado en los últimos años, esto se debe a diversos factores. En el caso del sector primario, se han perdido subsidios y apoyos por parte del gobierno, esto también se vio influenciado por la pandemia del Covid 2019. Asimismo, no se ha logrado la sinergia entre ganaderos y, por lo tanto, no hay apoyo para la implementación de programas de brucelosis y tuberculosis.

En el caso de la materia prima para la elaboración del quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca, ha habido una disminución de ésta y, por lo tanto, no hay suficiente leche para su elaboración. Por otro lado, se ha optado por adquirir leche proveniente de los estados de Veracruz y Puebla, e incluso en algunos casos se ha sustituido parcial o completamente la leche. Antes la elaboración del quesillo se

consideraba como una actividad primaria para el sustento de muchas familias, pero ahora ha pasado a ser la segunda actividad. Esto se debe a escases de la materia prima y por el tiempo y esfuerzo que se necesita para su elaboración. Del mismo modo, se percibe una disminución en el interés de seguir produciendo este queso por las siguientes generaciones.

Por otro lado, se percibió una disminución de agentes de soporte, como son las instituciones de investigación y secretarías de gobierno, esto a raíz de la pandemia del Covid 2019. Asimismo, la Unión de productores auténticos de queso y Quesillo de Reyes, Etlá S. A. de C. V sigue vigente pero no funciona, por lo tanto, no hay vinculación con instancias del gobierno para solicitar apoyos a los queseros.

A pesar de todos estos problemas que se han presentado en el sistema, la mayoría de los queseros siguen elaborando el quesillo de manera artesanal y genuina. Esperando que haya un reconocimiento y protección del producto, para que pueda seguir heredándose el saber - hacer.

3.6 Bibliografía

- Camarillo, S., & Martínez, K. (2023). *Calidad microbiológica y fisicoquímica del quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca durante su vida de anaquel* [Manuscrito en preparación]. Universidad Autónoma Chapingo.
- Champredonde, M. A. (2016). Tipicidad territorial: elemento fundacional de la construcción de una Denominación de Origen. *DRd - Desenvolvimento Regional Em Debate*, 6(1), 22–40. <https://doi.org/10.24302/drd.v6i1.1143>
- López, B. (2013). *Caracterización físico - química y microbiológica general del quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca* [Licenciatura]. Universidad Autónoma Chapingo.
- Márquez, L. (2015). *Inocuidad y vida de anaquel del quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca* [Maestría]. Universidad Autónoma Chapingo.
- Rodríguez, D. (2017). *Análisis de la red de valor y de innovación de la agroindustria del quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca como una estrategia de fortalecimiento de la cadena* [Licenciatura]. Universidad Autónoma Chapingo.
- Settanni, L., Di Grigoli, A., Tornambé, G., Bellina, V., Francesca, N., Moschetti, G., & Bonanno, A. (2012). Persistence of wild *Streptococcus thermophilus* strains on wooden vat and during the manufacture of a traditional Caciocavallo type cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 155(1–2), 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.01.022>
- Settanni, L., & Moschetti, G. (2014). New trends in technology and identity of traditional dairy and fermented meat production processes: Preservation of typicality and hygiene. *Trends in Food Science & Technology*, 37(1), 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.02.006>
- Tansey, Geoff., & Worsley, Tony. (1995). *The food system: a guide*. Earthscan.
- UNEP, FAO, & UNDP. (2023). *Rethinking Our Food Systems: A Guide for Multi-Stakeholder Collaboration*. FAO; UNEP; UNDP.
- Villegas, A., & Cervantes, F. (2011). La genuinidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales mexicanos. *Estudios Sociales*, 19(38), 146–164.
- Villegas, A., & Cervantes, F. (2018). Caracterización sistémica de quesos mexicanos tradicionales. Tres ejemplos. In *De quesos mexicanos: tradicionales y sus imitaciones* (Segunda, pp. 175–225). Universidad Autónoma Chapingo.
- Villegas, A., Cervantes, F., Cesín, A., Espinoza, A., Hernández, A., Santos, A., & Martínez, Á. (2014). *Atlas de los quesos mexicanos genuinos* (1st ed.). Colegio de Postgraduados.
- Villegas, A., Flores, E., Márquez, L., Rodríguez, D., & Sandoval, O. (2021). *La agroindustria alimentaria: Un enfoque sistémico* (Vol. 1). Colegio de Postgraduados.

4 CAMBIOS FISICOQUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS, TEXTURALES Y ESTRUCTURALES DEL QUESILLO EN LA TEMPORADA DE LLUVIAS Y ESTIAJE

4.1 Resumen

El quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca, es un queso fresco de pasta filata elaborado con leche cruda de vaca. Se produce a partir de la fermentación de la leche, ésta depende de la microbiota presente en la materia prima. Esto le confiere características particulares en composición y textura al queso, además, el tiempo de almacenamiento afecta la textura y microestructura del producto final. Por lo tanto, se identificó la composición fisicoquímica, la caracterización microbiológica del quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca, así como el análisis de las características texturales instrumentales y microestructura durante el tiempo de consumo en las dos temporadas de elaboración. Las muestras de quesillo se obtuvieron de tres queserías (Q1, Q2 y Q3) ubicadas en Reyes Etlá, Oaxaca. Se determinó durante las dos temporadas (Lluvias y Estiaje) el análisis proximal (humedad, proteína, grasa, cenizas g / 100 g de quesillo, pH), la caracterización microbiológica (MA, CT, BAL y levadura), el análisis de Perfil de Textura (Firmeza (N), adhesividad (N), elasticidad, cohesividad y gomosidad (N)) y la microestructura. Se observó que la quesería y la temporada influyen significativamente ($p \leq 0.05$) en el contenido de humedad, proteína, grasa y cenizas del quesillo. En el caso del pH se percibieron cambios ($p \leq 0.05$) en Q2 y Q3 durante la temporada de Estiaje. Se determinó que en lluvias hubo una mayor ($p \leq 0.05$) cuenta de bacterias. En el caso del análisis de textura y microestructura hubo cambios durante el tiempo de almacenamiento y las temporadas de evaluación. Los cambios en la composición fisicoquímica se deben a la alimentación del ganado, el aumento de bacterias en la temporada de lluvias puede deberse a que se favorece el crecimiento microbiano. La textura y microestructura se vieron afectadas durante el tiempo de almacenamiento, siendo la degradación proteolítica una de las causas.

Palabras clave

Leche cruda, quesillo, pasta filata, textura, microestructura.

Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Lissette Peralta Flores

Director: Dra. Ofelia Sandoval Castilla

PHYSICOCHEMICAL, MICROBIOLOGICAL, TEXTURAL AND STRUCTURAL CHANGES OF THE QUESILLO IN THE RAINY AND DRY SEASON

Abstract

Quesillo from Reyes Etlá, Oaxaca, is a fresh pasta filata cheese made with raw cow's milk. It is produced from the fermentation of milk; this depends on the microbiota present in the raw material. This gives characteristics in composition and texture to the cheese. In addition, storage time affects the texture and microstructure of the final product. Therefore, the physicochemical composition, the microbiological characterization of the quesillo from Reyes Etlá, Oaxaca, as well as the analysis of the instrumental textural characteristics and microstructure during the consumption time in the two production seasons, were identified. The quesillo samples were obtained from three cheese factories (Q1, Q2 and Q3) located in Reyes Etlá, Oaxaca. The proximal analysis (moisture, protein, fat, ash g / 100 g of cheese, pH), the microbiological characterization (MA, CT, LAB, and yeast), the analysis of the Profile of Texture (Firmness (N), adhesiveness (N), elasticity, cohesiveness and rubberiness (N)) and microstructure. It was observed that the cheese factory and the season significantly influence ($p \leq 0.05$) the moisture, protein, fat, and ash content of the cheese. In the case of pH, changes ($p \leq 0.05$) were perceived in Q2 and Q3 during the dry season. It was determined that in rain there was a higher ($p \leq 0.05$) count of bacteria. In the case of the texture and microstructure analysis, there were changes during the storage time and the evaluation seasons. The changes in the physicochemical composition are due to the feeding of the livestock; the increase in bacteria in the rainy season may be due to the fact that microbial growth is favored. The texture and microstructure were affected during storage time, with proteolytic degradation being one of the causes.

Key words

Raw milk, quesillo, pasta filata, texture, microstructure.

Thesis of Master Science, Program of Agro-Food Science and Technology, Universidad Autónoma Chapingo.

Author: Lissette Peralta Flores

Thesis Director: Ofelia Sandoval Castilla, Dra.

4.2 Introducción

Actualmente, los productos lácteos tradicionales forman parte de la dieta moderna, siendo los quesos los de mayor consumo (Yang et al., 2021). Esto se debe, a que el queso es considerado como un producto lácteo fermentado rico en nutrientes, debido al contenido de proteínas de alta calidad (caseínas), lípidos, minerales (v. g. calcio, fósforo y magnesio), vitaminas (v. g. vitamina A, K₂, B₂, B₁₂ y folatos), y probióticos y moléculas bioactivas, como es el caso de los péptidos, lactoferrinas y ácidos grasos de cadena corta, lo cuales pueden proporcionar diversos beneficios a la salud (Zhang et al., 2023).

En el caso de México, la mayoría de los quesos artesanales se producen con leche cruda. Estos quesos no sólo son un alimento, ya que tanto el producto como su proceso de elaboración se encuentran ligados a su lugar de origen, debido a la historia y cultura que existen en esos territorios. En el caso del quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca, es considerado como un queso fresco de pasta filata o hilada, semiblando con una textura fibrosa (Fuentes et al., 2015), con excelentes propiedades de fusión, sabor suave y con una presentación final de “bola” o “madeja” (Escobedo-Avellaneda et al., 2021; Villegas et al., 2016). Este queso se produce mediante la fermentación de la leche, esta depende de la microbiota presente en la leche cruda, como son las bacterias, hongos y levaduras. Por lo que, la presencia de las interacciones sucesivas de los microorganismos son un factor importante en la elaboración del queso, como es la fermentación de la cuajada, la formación del queso y la maduración, lo que conlleva a características particulares en composición, textura, olor y sabor (González-Córdova et al., 2016).

Se considera que uno de los grupos más representativos de la microbiota del queso son las bacterias ácido – lácticas (BAL). Así mismo, se considera un grupo muy importante, debido a su actividad metabólica, que va desde la digestión de los carbohidratos, la creación de ácidos orgánicos, entre otros metabolitos. Por otro lado, las BAL, pueden contribuir tanto a la calidad sensorial como la seguridad del queso, esto se debe a que pueden participar en los procesos de proteólisis y lipólisis, debido a estas propiedades, son considerados como

seguros para el consumo humano. Por otra parte, investigaciones recientes han demostrado que las BAL autóctonas de los quesos, aparte de ofrecer características organolépticas, también pueden inhibir el crecimiento de microorganismo patógenos, esto se debe a la producción de ácidos orgánicos, como son el peróxido de hidrógeno, etanol, sustancias fenólicas, y así mismo, la capacidad de sintetizar pépticos antimicrobianos y bacteriocinas (Maldonado et al., 2013).

Por otro lado, se ha demostrado que el tiempo de almacenamiento afecta significativamente a la textura, así como en la estructura. Estos cambios se deben principalmente a la proteólisis, a la fermentación de los carbohidratos residuales y a la disociación del calcio. Así mismo, a las condiciones de elaboración, ya que estas influyen en la composición y funcionalidad de los quesos de pasta filata durante el tiempo de almacenamiento (Fuentes et al., 2015).

Con lo antes mencionado, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la composición fisicoquímica, realizar la caracterización microbiológica (mesófilos aerobios, coliformes totales, bacterias ácido – lácticas, hongos y levaduras) del quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca en la temporada de lluvias y estiaje; además de analizar las características texturales instrumentales y la microestructura del quesillo durante el tiempo de consumo en las dos temporadas de elaboración.

4.3 Materiales y métodos

4.3.1 Material experimental

Las muestras de quesillo se obtuvieron de tres queserías ubicadas en Reyes Etlá, Oaxaca, en la época de lluvias (octubre 2022) y estiaje (febrero 2023). Las muestras fueron transportadas en condiciones de refrigeración (4 ± 0.5 °C) para su posterior análisis (Oca-Flores et al., 2019).

4.3.2 Análisis químico proximal

A las muestras evaluadas tanto en la temporada de lluvias como de estiaje se les determinó el contenido de humedad, proteína y cenizas, de acuerdo con las

metodologías descritas por la Standard Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2019). El contenido de grasa se evaluó mediante el método Van Gulik, de acuerdo con la metodología descrita por la ISO 3433:2008 (2008). En el caso del pH se empleó la metodología establecida por la NOM-F-317-S-1978. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

4.3.3 Determinaciones microbiológicas

Las determinaciones microbiológicas se realizaron tanto en la época de lluvias como de estiaje, en el Laboratorio de Microbiología del Departamento de Ingeniería Agroindustrial, ubicado en la Universidad Autónoma Chapingo.

Para evaluar las características microbiológicas de los quesos, se realizó la esterilización del material y la preparación de las diluciones conforme a lo establecido en la NOM-110-SSA1-1994. Se realizaron las diluciones pertinentes con tres repeticiones por cada quesería. La cuantificación de cada uno de los grupos de microorganismos (mesófilos aerobios totales, coliformes totales, bacterias ácido lácticas, hongos y levaduras) se realizó por triplicado para cada quesería.

Recuento de mesófilos aerobios totales

En el caso de la cuantificación de mesófilos aerobios (MA) se emplearon placas Petrifilm™ 3M™. Y se cuantificaron conforme a las instrucciones del fabricante. Los resultados se expresaron en $\log_{10} ufc \cdot g^{-1}$ (Mendoza-Cuevas et al., 2022).

Recuento de coliformes totales

El recuento de coliformes totales (CT) se realizó en placas Petrifilm™ 3M™ y se incubaron (9162 Incubadora - Ecoschel®) a 34 ± 2 °C durante 24 ± 2 h (Firmo et al., 2023). Los resultados se expresaron en $\log_{10} ufc \cdot g^{-1}$.

Recuento de Bacterias ácido-lácticas

En el caso, de la cuantificación de las bacterias ácido-lácticas (BAL) se utilizó Agar MRS (Difco™) y se incubaron a 35 ± 2 °C (9162 Incubadora - Ecoschel®) por 48 ± 2 h (Dolci et al., 2020). Los resultados se expresaron en $\log_{10} ufc \cdot g^{-1}$.

Recuento de levaduras y mohos

Para la cuantificación de levaduras y mohos se realizó en Petrifilm™ 3M™, se incubó (Shel Lab®) a 25 ± 2 °C durante 5 días. Se realizaron por triplicado en las diferentes épocas de elaboración. Los resultados se expresaron en $\log_{10} ufc \cdot g^{-1}$ (Moncada et al., 2015).

4.3.4 Análisis de perfil de textura

El análisis de textura se realizó en el laboratorio de evaluación sensorial del Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Autónoma Chapingo. Para el análisis de textura se basó en la metodología propuesta por Alinovi & Mucchetti (2020); Sandoval-Copado et al. (2016), donde la medición se realizó a temperatura ambiente (24 ± 0.5), empleando una prueba de doble compresión en un analizador de textura (Stable Micro Systems-XT2i), se cortaron muestras representativas de cada queso en paralelo a la orientación longitudinal de las fibras en tamaños de 20 x 30 mm. Los parámetros de prueba utilizados fueron una velocidad de prueba de 2 mm / s al 50 % de deformación, y un tiempo de recuperación de 5 s. Se empleó una sonda cilíndrica de acero inoxidable con un diámetro de 50 mm. Se evaluaron los parámetros de firmeza, adhesividad, cohesividad, elasticidad, gomosidad y masticabilidad. Cada medición se realizó por sextuplicado a los días 2, 6 y 12 en las diferentes épocas de evaluación (temporada de lluvias y estiaje).

4.3.5 Análisis de microestructura

En el caso de microestructura, se evaluaron muestras de las tres queserías al día 2 y 12 de almacenamiento en las dos temporadas de evaluación (lluvias y estiaje). La preparación de las muestras se realizó con base en la metodología propuesta por Sandoval-Castilla et al. (2004); se fijaron las proteínas con glutaraldehído al 2 % (Agar Scientific®) en una solución amortiguadora de fosfatos (PBS) (0.1 M, pH 7.2) a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) durante 2 h, posteriormente, se volvieron a colocar en glutaraldehído, a la misma concentración, por 24 h a 4 ± 0.5 °C.

Las muestras fijadas se lavaron con solución PBS. Para la fijación de los lípidos se empleó tetraóxido de osmio al 1 % en solución PBS durante 2 h. Una vez transcurrido el tiempo, se lavaron las muestras con solución PBS. Posteriormente se deshidrataron en una serie gradual de soluciones de etanol al 30 %, 50 %, 70 %, 80 % y 90 % (cada uno en 1 h) y luego en etanol absoluto durante 24 h.

Las muestras fueron secadas a punto crítico con dióxido de carbono en un equipo Samdri – 780 A (Tousimis, Rockville, MD, U. S. A). Las muestras se fragmentaron y se montaron en portamuestras para ser recubiertas con oro al vacío en un metalizador Q150R ES (Quorum Technologies, UK). Las muestras se examinaron en un microscopio electrónico de barrido FEI / Quanta 450 (Hillsboro, Oregón, U. S. A) a 10 kV.

4.3.6 Diseño experimental

En el caso del análisis proximal y la caracterización microbiológica se empleó un diseño factorial 2 x 2, y para el Análisis de Perfil de Textura un diseño factorial 3 x 2 x 3 (Ott & Longnecker, 2010). En los casos pertinentes se aplicó una prueba de Tukey de comparación de medias ($p \leq 0.05$), usando el programa estadístico MINITAB® 17 (USA).

4.4 Resultados y discusión

4.4.1 Análisis químico proximal

En el Cuadro 8 se puede observar los resultados obtenidos del análisis proximal de tres queserías de quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca evaluadas durante la temporada de lluvias y estiaje. Se evaluó humedad (g / 100 g quesillo), proteína (g / 100 g quesillo), grasa (g / 100 g quesillo) y cenizas (g / 100 g quesillo).

Se identificó que la quesería y la temporada influyen significativamente ($p \leq 0.05$) en el contenido de humedad, proteína, grasa y cenizas del quesillo. Se observó que el quesillo elaborado en Q1 durante la temporada de lluvias fue el que contenía mayor ($p \leq 0.05$) humedad. Por otro lado, en el contenido de proteína fue bajo ($p \leq 0.05$) en Q1 y Q3 en la temporada de lluvias, y Q2 en la temporada

de estiaje. En el caso del contenido de ceniza se observó que Q3 en la temporada de lluvias, Q2 en ambas temporadas tuvieron valores similares ($p > 0.05$), mientras que Q2 en la temporada de lluvias tuvo una mayor ($p \leq 0.05$) cantidad de cenizas que el quesillo de Q1 en lluvias y Q3 en estiaje.

Cuadro 8. Análisis proximal del quesillo de Reyes Etla, Oaxaca, en la temporada de lluvias (L) y estiaje (E).

Quesería	Temporada	Humedad (g / 100 g quesillo)	Proteína (g / 100 g quesillo)	Grasa (g / 100 g quesillo)	Cenizas (g / 100 g quesillo)
Q1	L	47.67 ± 0.45 ^b	39.32 ± 4.19 ^b	55.92 ± 3.56 ^a	5.27 ± 0.23 ^d
	E	52.21 ± 1.61 ^a	52.38 ± 4.52 ^a	45.15 ± 1.43 ^{bc}	6.27 ± 0.18 ^{bc}
Q2	L	47.97 ± 0.63 ^b	49.96 ± 3.54 ^a	43.27 ± 2.24 ^c	7.17 ± 0.40 ^{ab}
	E	48.89 ± 0.27 ^b	43.53 ± 0.77 ^{ab}	55.04 ± 2.97 ^a	6.62 ± 0.46 ^{abc}
Q3	L	48.17 ± 0.67 ^b	48.29 ± 3.14 ^{ab}	44.55 ± 0.65 ^{bc}	7.38 ± 0.41 ^a
	E	48.30 ± 0.80 ^b	48.49 ± 2.44 ^a	50.16 ± 1.37 ^{ab}	5.67 ± 0.31 ^{cd}

Los superíndices ^a, ^b, ^c y ^d hacen referencia a la comparación de medias entre queserías y las temporadas de evaluación L (lluvias) y E (Estiaje). Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

Conforme a los parámetros evaluados se puede decir que el quesillo de las tres queserías en las diferentes temporadas de evaluación cumple con lo estipulado en la NMX-F-733-COFOCALEC-2013, ya que ésta establece como mínimo 21.5 % (m / m) de proteína, 20 % (m / m) de grasa y un máximo del 51 % (m / m) de humedad. Se puede observar que el contenido de proteína y grasa (g / 100 g quesillo) están por encima de lo mínimo requerido. Mientras que en humedad (g / 100 g quesillo) está por debajo de lo máximo permitido. A pesar de que el quesillo de Reyes Etla, Oaxaca cumple con varios de los parámetros establecidos en NMX-F-733-COFOCALEC-2013 sigue incumpliendo la norma, ya que se elabora con leche cruda de vaca.

Oca-Flores et al. (2019) mencionan que el contenido de grasa y humedad en el queso Oaxaca fueron mayores en la temporada de lluvias. Por otro lado, en el queso adobera, Ruvalcaba-Gómez et al. (2020) observaron en la temporada de lluvias un menor contenido de proteínas en comparación a los elaborados en la temporada de estiaje. En el caso de esta investigación no se observó que en el

contenido de proteína fuera menor en la temporada de lluvias o que los valores de humedad y grasa fueran mayores en la temporada de lluvias, esto puede ser atribuible a la disponibilidad del forraje en la alimentación del ganado, ya que afecta las propiedades tecnológicas de la leche y por ende la composición del queso (Oca-Flores et al., 2019; Ruvalcaba-Gómez et al., 2020).

Por otra parte, la quesería y la temporada tuvieron un efecto ($p \leq 0.05$) en el pH del quesillo (Cuadro 9). Se observó que el quesillo de Q3 elaborado en la temporada de estiaje tuvo un pH bajo ($p \leq 0.05$) en comparación a los otros.

Cuadro 9. Evaluación del pH del quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca, en la temporada de lluvias (L) y estiaje (E).

Quesería	Temporada	pH
Q1	L	5.61 ± 0.07^a
	E	5.52 ± 0.10^a
Q2	L	5.67 ± 0.18^a
	E	5.25 ± 0.02^b
Q3	L	5.65 ± 0.21^a
	E	4.96 ± 0.10^c

Los superíndices ^a, ^b y ^c hacen referencia a la comparación de medias entre queserías y las temporadas de evaluación L (lluvias) y E (Estiaje). Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

De acuerdo con de Jesus Filho et al. (2023), mencionan que dependiendo de la estación en que se elabore el queso, el pH es diferente, siendo la de temporada de lluvias donde el pH es mayor en comparación a la temporada de estiaje, esto puede ser por la composición de las BAL presentes en la materia prima (leche). En el caso del quesillo sólo hubo cambios en el pH de Q2 y Q3 en la temporada de estiaje, siendo estos los valores más bajos.

4.4.2 Determinaciones microbiológicas

A continuación, en el Cuadro 10 se observan los resultados obtenidos de la caracterización microbiológica del quesillo en tres diferentes queserías (Q1, Q2 y Q3) y dos temporadas de evaluación (lluvia y estiaje). Se caracterizaron mesófilos aerobios, coliformes totales, bacterias ácido – lácticas y levaduras, las cuales están expresadas como $\log_{10} ufc \cdot g^{-1}$.

Se puede decir que la quesería dos (Q2) tuvo una mayor cuenta de mesófilos aerobios en comparación ($p \leq 0.05$) a Q1 y Q3, de las cuáles la Q3 es la que menor contenido de mesófilos aerobios tuvo, por otro lado, no hubo diferencia entre las temporadas de evaluación ($p > 0.05$).

En el caso de coliformes totales la Q1 tuvo una mayor cuenta en comparación a las otras dos ($p \leq 0.05$), mientras que la Q3 fue la que tuvo una menor cuenta ($p \leq 0.05$). Por otro lado, en la temporada de lluvias (L) hubo una mayor ($p \leq 0.05$) presencia de coliformes totales que en la temporada de estiaje.

La Q2 es la que menor cuenta de bacterias ácido – lácticas (BAL) tuvo en comparación ($p \leq 0.05$) a las otras dos, de las cuales Q1 fue la que tuvo mayor contenido de BAL ($p \leq 0.05$). Por otro lado, en la temporada de lluvias hubo una mayor cuenta ($p \leq 0.05$) en comparación a la temporada de estiaje.

En el caso de levaduras en la Q3 hubo una mayor presencia ($p \leq 0.05$) en comparación a las otras dos. Así mismo se puede observar que en la temporada de lluvias hubo una mayor cantidad de levaduras en comparación ($p \leq 0.05$) a la temporada de estiaje. Por otro lado, no hubo presencia de hongos.

Cuadro 10. Caracterización microbiológica en quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca. En la temporada de lluvias (L) y estiaje (E).

Quesería	Temporada	Mesófilos aerobios ($\log_{10}ufc \cdot g^{-1}$)	Coliformes Totales ($\log_{10}ufc \cdot g^{-1}$)	Bacterias ácido – lácticas ($\log_{10}ufc \cdot g^{-1}$)	Levaduras ($\log_{10}ufc \cdot g^{-1}$)
Q1	L	8.23 ± 0.06 ^{bx}	6.44 ± 0.08 ^{ax}	10.28 ± 0.10 ^{ax}	3.21 ± 0.03 ^{cx}
	E	8.22 ± 0.07 ^{bx}	4.94 ± 0.06 ^{ay}	8.35 ± 0.08 ^{ay}	2.97 ± 0.43 ^{cy}
Q2	L	8.45 ± 0.03 ^{ax}	4.65 ± 0.15 ^{bx}	9.24 ± 0.05 ^{cx}	4.73 ± 0.28 ^{bx}
	E	8.47 ± 0.06 ^{ax}	3.58 ± 0.05 ^{by}	8.37 ± 0.10 ^{cy}	1.78 ± 0.12 ^{by}
Q3	L	7.61 ± 0.03 ^{cx}	4.20 ± 0.06 ^{cx}	9.71 ± 0.60 ^{bx}	7.34 ± 0.04 ^{ax}
	E	7.03 ± 0.34 ^{cx}	3.28 ± 0.04 ^{cy}	8.48 ± 0.13 ^{by}	4.69 ± 0.04 ^{ay}

Los superíndices ^a, ^b y ^c hacen referencia a la comparación de medias entre queserías, mientras que ^x y ^y hacen referencia a la comparación entre temporada de evaluación L (lluvias) y E (Estiaje). Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

Por otro lado, la NOM-243-SSA1-2010 establece para coliformes totales un límite <100 UFC/g, 500 UFC/g mohos y levaduras. En el caso de, mesófilos aerobios no hay un límite establecido. Como se puede observar en el Cuadro 3 al ser un

queso elaborado con leche cruda, los valores están por encima del límite permitido, por lo que no cumplen con lo estipulado en la norma, esto se debe a que en la leche cruda se encuentran bacterias ácido – lácticas, de putrefacción, coliformes y butíricas, la mayoría de estas son eliminadas mediante la pasteurización (Başaran et al., 2023).

En el caso MA el conteo oscilo entre 7 y 8 $\log_{10}ufc \cdot g^{-1}$, para CT fue entre 3 y 6 $\log_{10}ufc \cdot g^{-1}$ y en levadura la cuenta estuvo entre 3 y 7 $\log_{10}ufc \cdot g^{-1}$. Por otro lado, Caro et al. (2013) evaluaron el queso Oaxaca elaborado con leche cruda, la cuenta de los mesófilos aerobios fue de $7.63 \pm 0.76 \log_{10}ufc \cdot g^{-1}$, en coliformes totales cuantificó $4.08 \pm 1.41 \log_{10}ufc \cdot g^{-1}$ y en levaduras obtuvo $4.82 \pm 2.52 \log_{10}ufc \cdot g^{-1}$, por lo tanto, fueron similares a los valores obtenidos. Por otro lado, en BAL obtuvo un conteo de $6.52 \pm 0.85 \log_{10}ufc \cdot g^{-1}$, mientras que en esta investigación lo valores oscilaron entre 8 y 10 $\log_{10}ufc \cdot g^{-1}$.

Por otra parte, Castro et al. (2016), mencionan que hubo una mayor presencia de coliformes totales y levaduras en quesos elaborados en la temporada de lluvias, esto puede ser atribuible a las condiciones ambientales que favorecen el crecimiento microbiano. Así mismo, se observó un comportamiento diferente en las BAL, ya que hubo mayor cantidad en la temporada de estiaje que en la de lluvias, mientras que en esta investigación hubo una mayor presencia de BAL en la temporada de lluvias.

Las BAL reducen el pH e incrementan los niveles de acidez, lo que limita el crecimiento de muchas bacterias dañinas (Andrade et al., 2008). Además, las BAL pueden producir bacteriocinas, como es el caso de nisina y plantarisina, que previenen el crecimiento de microorganismos patógenos (Dos Santos Morais et al., 2022).

4.4.3 Análisis de Perfil de Textura

A continuación, se observa en el Cuadro 11 el Análisis de Perfil de Textura del quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca, evaluado al día 2, 6 y 12 durante la temporada de lluvias (L) y estiaje (E). Se evaluaron los parámetros de firmeza (N), cohesividad (Ad), elasticidad (Ad), adhesividad (Ns) y gomosidad (N). Los parámetros de elasticidad y adhesividad (Ns) no fueron significativos ($p > 0.05$) entre queserías, días y temporadas de evaluación.

Se puede decir que el quesillo de la quesería dos (Q2) tuvo mayor firmeza en comparación a las otras dos queserías ($p \leq 0.05$), por otro lado, al día seis se observó un mayor valor ($p \leq 0.05$) en este parámetro tanto en la temporada de lluvia como de estiaje, así mismo, en la temporada de estiaje se observa una disminución ($p \leq 0.05$) en la firmeza.

En el caso de la cohesividad, el quesillo de Q1 fue el que valores más altos ($p \leq 0.05$) exhibió en comparación con las otras dos queserías, tanto en la temporada de lluvias como en temporada de estiaje. Sin embargo, esta propiedad textural no tuvo variación ($p > 0.05$) en los días de almacenamiento del queso. Así mismo, al comparar la variable de temporada, para cada una de las queserías, esta propiedad no se vio modificada entre lluvias y estiaje ($p > 0.05$). Con respecto a la gomosidad, el quesillo de la Q2 presentó valores mayores en comparación a las otras queserías ($p \leq 0.05$), esto se observó tanto en la temporada de lluvia como de estiaje ($p > 0.05$), en cuanto a los días de evaluación, el día seis en ambas temporadas tuvo mayor gomosidad en comparación al día dos y 12 ($p \leq 0.05$).

Cuadro 11. Análisis de Perfil de Textura del quesillo de Reyes Etla, Oaxaca. En la temporada de lluvias (L) y estiaje (E).

		Temporada de lluvia						Temporada de estiaje					
Parámetro	Quesería	Día 2		Día 6		Día 12		Día 2		Día 6		Día 12	
Firmeza (N)	1	19.44 ± 4.36	bmy	33.43 ± 8.98	bmx	17.67 ± 1.15	bmy	33.17 ± 13.78	bny	33.56 ± 5.03	bnx	26.13 ± 4.99	bny
	2	45.11 ± 12.24	amy	121.34 ± 18.80	amx	43.63 ± 3.32	amy	36.14 ± 9.74	any	47.31 ± 4.00	anx	41.66 ± 8.93	any
	3	24.19 ± 6.31	bmy	41.84 ± 5.23	bmx	29.06 ± 7.17	bmy	27.20 ± 11.71	bny	35.03 ± 7.41	bnx	35.14 ± 8.95	bny
Cohesividad	1	1.65 ± 0.12	amx	1.60 ± 0.09	amx	1.70 ± 0.09	amx	1.40 ± 0.08	amx	1.35 ± 0.10	amx	1.36 ± 0.10	amx
	2	1.36 ± 0.07	cmx	1.36 ± 0.02	cmx	1.20 ± 0.02	cmx	1.39 ± 0.03	cmx	1.41 ± 0.03	cmx	1.42 ± 0.03	cmx
	3	1.41 ± 0.06	bmx	1.42 ± 0.02	bmx	1.29 ± 0.02	bmx	1.39 ± 0.06	bmx	1.52 ± 0.09	bmx	1.48 ± 0.07	bmx
Gomosidad (N)	1	32.12 ± 8.27	bmy	51.56 ± 18.25	bmx	30.25 ± 3.06	bmy	45.95 ± 17.83	bny	44.59 ± 3.74	bnx	37.96 ± 8.69	bny
	2	60.92 ± 15.34	amy	165.07 ± 22.78	amx	52.65 ± 3.43	amy	48.28 ± 12.32	any	66.89 ± 4.62	anx	58.41 ± 11.70	any
	3	34.45 ± 9.58	bmy	59.48 ± 6.66	bmx	37.78 ± 9.52	bmy	38.22 ± 17.77	bny	53.19 ± 10.38	bnx	50.16 ± 11.94	bny

Los superíndices ^a, ^b y ^c hacen referencia a la comparación de medias entre queserías, mientras que ^m y ⁿ hacen referencia a la comparación entre temporada de evaluación L (lluvias) y E (Estiaje), ^x y ^y es la comparación entre días de evaluación. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

En el quesillo, durante los primeros días de almacenamiento se observó un aumento en la firmeza, mientras que en los últimos días la firmeza disminuyó, Gunasekaran & Ak (2002) mencionan que los cambios de textura en el queso durante el tiempo de almacenamiento suceden en dos fases. En la primera hay un cambio en la red de caseína, ésta se debilita cuando se hidroliza un enlace sencillo en un 20 % de la caseína α_{s1} . El péptido α_{s1} resultante provoca el ablandamiento inicial del queso. Por otro lado, la fase 2, ocurre después de las dos semanas de elaboración, donde los cambios proteolíticos son graduales, este cambio se debe a la tasa de proteólisis y al aumento del pH (Gunasekaran & Ak, 2002).

En el quesillo hubo una disminución de la firmeza durante el tiempo de almacenamiento, así mismo al día 12 se observó la pérdida parcial o total de las correas y hebras características del producto. En el caso del queso mozzarella se observó una disminución de firmeza durante el tiempo de almacenamiento (Fuentes et al., 2015), esto se debe principalmente a la degradación proteolítica de la caseína α_{s1} , la matriz proteica se debilita y reorganiza, dando como resultado un queso más suave, con una menor elasticidad y más fundible (Gunasekaran & Ak, 2002).

En el caso del quesillo se observó una menor firmeza en la temporada de estiaje, esto puede ser atribuible al pH, ya que se tuvo un pH bajo durante la temporada de estiaje. Fuentes et al. (2015) observaron que el cambio en la firmeza durante el tiempo de almacenamiento del queso Oaxaca, se puede deber a la disminución del pH, ya que a un pH más bajo hay una menor firmeza, lo que provoca cambios en la estructura de la caseína al haber una disminución de la carga negativa neta, provocando la liberación de Ca soluble (iónico). Otra posible causa de la disminución de la firmeza en el tiempo de almacenamiento es la absorción de agua en la matriz proteica, generando hinchazón en ésta, provocando la disminución de la interacción proteína – proteína (Fuentes et al., 2015).

4.4.4 Análisis de microestructura

La microestructura en el queso tiene una disposición compleja de la matriz proteica, ya que en ella quedan atrapadas la grasa y otros componentes. La microestructura del queso es el arreglo espacial de las proteínas, como es el caso de las caseínas, éstas se unen en grupos y cadenas para dar lugar a una red de proteínas viscoelásticas, en la cual se dispersa lo que es la humedad, los glóbulos de grasa, los minerales y las bacterias (Mehta, 2018).

A continuación, se observan la micrografías en la Figura 5, Figura 6, Figura 7 y Figura 8 del quesillo evaluado al día dos y doce durante la temporada de lluvia (L) y estiaje (E). Los componentes de grasa y proteína se fijaron y el agua se eliminó del queso durante la preparación de las muestras.

En la Figura 5 se pueden observar las micrografías electrónicas de las queserías uno, dos y tres (Q1, Q2 y Q3) evaluadas en la temporada de lluvias al día dos, donde se observan las alineaciones de las hebras de caseína, así como la distribución de los glóbulos de grasa en la matriz proteica. En el caso de Q1 no se observan las hebras de caseína definidas y orientadas en un mismo sentido, así como los canales donde había suero en comparación a las otras dos muestras de quesillo. Por otro lado, en Q2 se observan las hebras de caseína alineadas y entre estas hebras paralelas los canales que contenían suero, así mismo se aprecian partículas adheridas, que posiblemente sean partículas de grasa.

Por otro lado, en la Figura 6 se pueden observar las micrografías electrónicas de las queserías, uno, dos y tres (Q1, Q2 y Q3) evaluadas en la temporada de estiaje al día dos. En las micrografías de las tres queserías se pueden observar las hebras de caseína largas y delgadas que se encuentran alienadas en dirección al estirado, así mismo entre las hebras paralelas se observan canales que tenían suero y glóbulos de grasa.

En el caso de la Figura 7, se observan las micrografías electrónicas de las queserías uno, dos y tres (Q1, Q2 y Q3) evaluadas en la temporada de lluvias al

día doce. En Q1, Q2 y Q3 no se observan las alineaciones de las hebras largas de caseína, así como los canales entre cada hebra.

Por otro lado, en la Figura 8, se observan las micrografías electrónicas de las queserías uno, dos y tres (Q1, Q2 y Q3) evaluadas en la temporada de estiaje al día doce. En las cuales, se puede observar que las hebras de caseína son más compactas, así mismo se observan entre las hebras canales con espacios vacíos, los cuales pueden ser áreas que contenían gotas de grasa y canales de suero.

Se puede observar que en el caso de Q1, para la temporada de lluvias del día 2 (Figura 5) al día 12 (Figura 7) hay un cambio de la estructura de las hebras de caseína orientadas. Así mismo en la temporada de estiaje se observó un cambio entre el tiempo de evaluación; las fibras de proteína se observaron con menor definición al día 12, originándose una estructura con glóbulos de grasa de mayor tamaño.

Por otra parte, el quesillo de Q2 del día 2 (Figura 5) al día 12 (Figura 7) en temporada de lluvias, hay un cambio estructural en las hebras de caseína, ya que al día 2 se observaron las fibras de proteína definidas y orientas en un mismo sentido, y los canales de lactosuero, mientras que al día 12 se ha perdido la estructura de las hebras de caseína y los canales de lactosuero observados al día 2. Por otro lado, en la temporada de estiaje, se puede observar en el día 2 (Figura 6) los canales de lactosuero, así como hebras gruesas de caseína orientadas en una sola dirección. Mientras que al día 12 (Figura 8) se ha perdido un poco la estructura de las fibras y de los canales de lactosuero.

En el caso del quesillo de Q3, en la temporada de lluvias se observó al día 2 (Figura 5) fibras delgadas ligeramente definidas, al igual que los canales de lactosuero. Por otro lado, al día 12 (Figura 7) no se alcanzó a observar las hebras de caseína bien definidas, ni los canales de lactosuero, se alcanzaron a percibir pequeños espacios vacíos, los cuales pudieron ser áreas que contenían partículas de grasa y suero. En la temporada de estiaje en Q3 se percibieron las fibras gruesas orientadas en un mismo sentido al día 2 (Figura 6), así mismo, los

canales de lactosuero. En el caso del día 12 (Figura 8) no se observan las fibras ni los canales de lactosuero.

Por otro lado, la estructura del quesillo en los días de evaluación, y en la temporada de estiaje tuvieron una matriz bien organizada, esto quiere decir, que se observan hebras de caseína definidas y orientadas en un mismo sentido, en las cuales se encontraron los espacios vacíos que en un principio estaban ocupados por los glóbulos de grasa, así mismo, los canales de lactosuero.

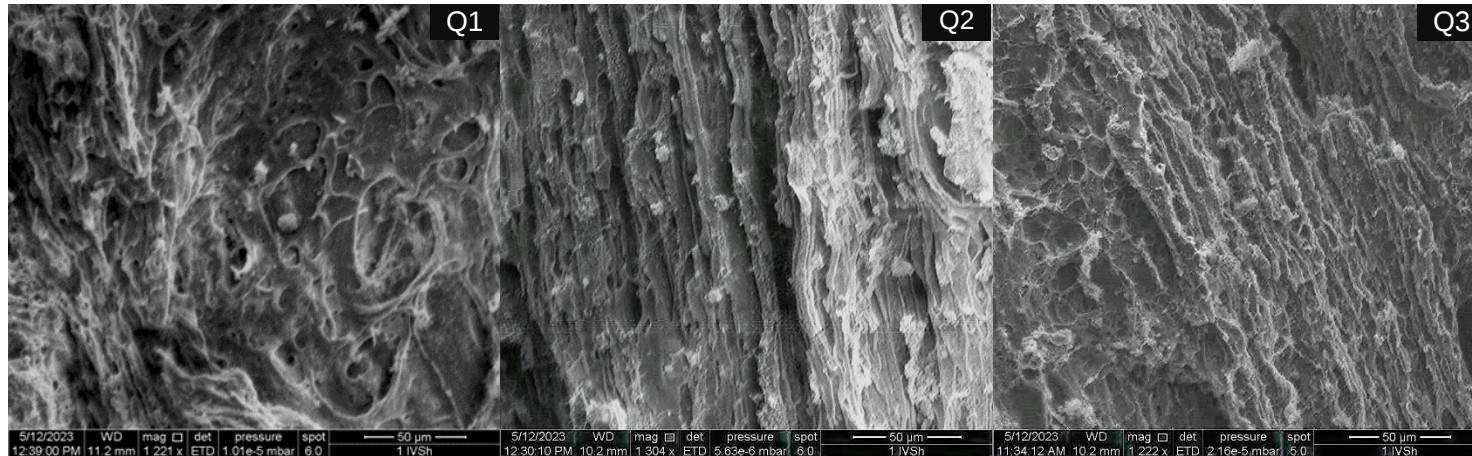


Figura 5. Serie de micrografías de queso de Reyes Etlá, Oaxaca en la temporada de lluvia al día 2 de almacenamiento en las diferentes queserías (Q1: quesería 1; Q2: quesería 2; Q3: quesería 3). La barra en las imágenes corresponde a 50 µm.

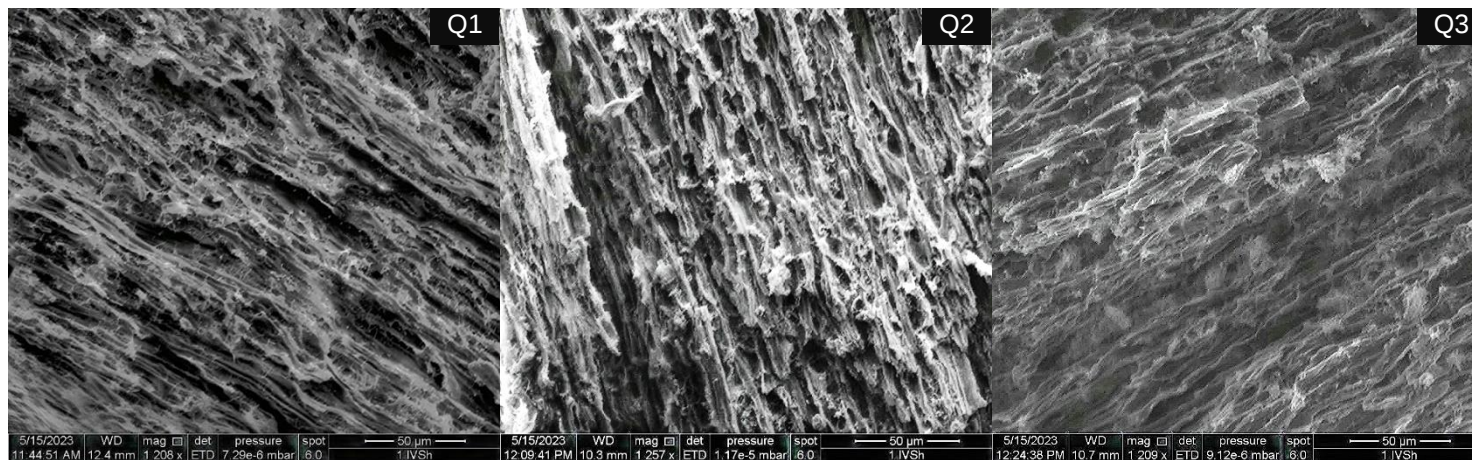


Figura 6. Serie de micrografías de queso de Reyes Etlá, Oaxaca en la temporada de estiaje al día 2 de almacenamiento en las diferentes queserías (Q1: quesería 1; Q2: quesería 2; Q3: quesería 3) de queso de Reyes Etlá, Oaxaca. La barra en las imágenes corresponde a 50 µm.

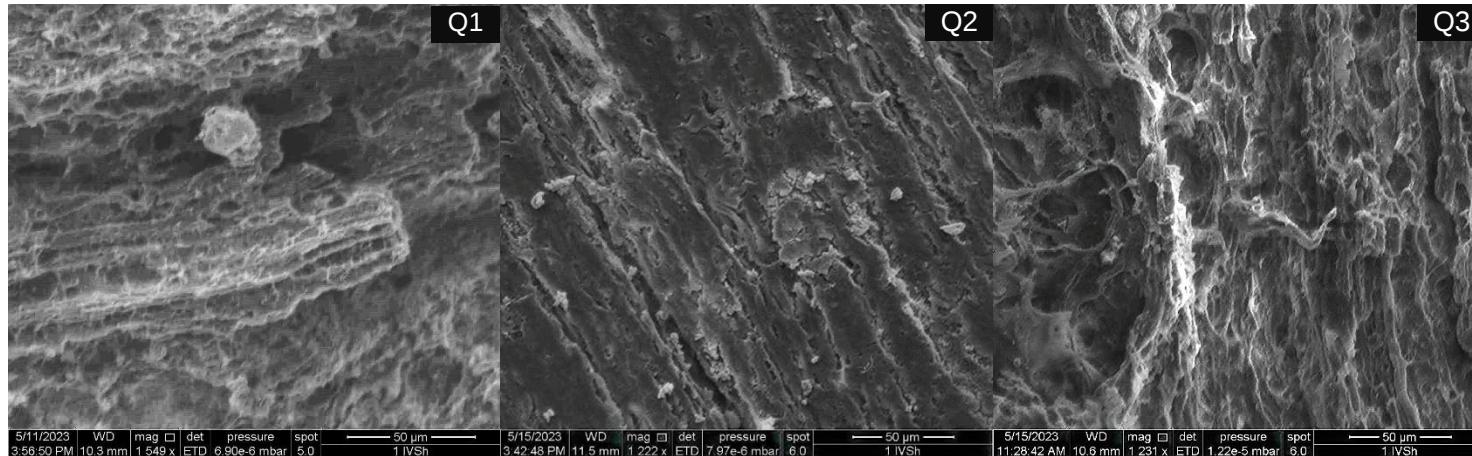


Figura 7. Serie de micrografías de quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca en la temporada de lluvia al día 12 de almacenamiento en las diferentes queserías (Q1: quesería 1; Q2: quesería 2; Q3: quesería 3). La barra en las imágenes corresponde a 50 µm.

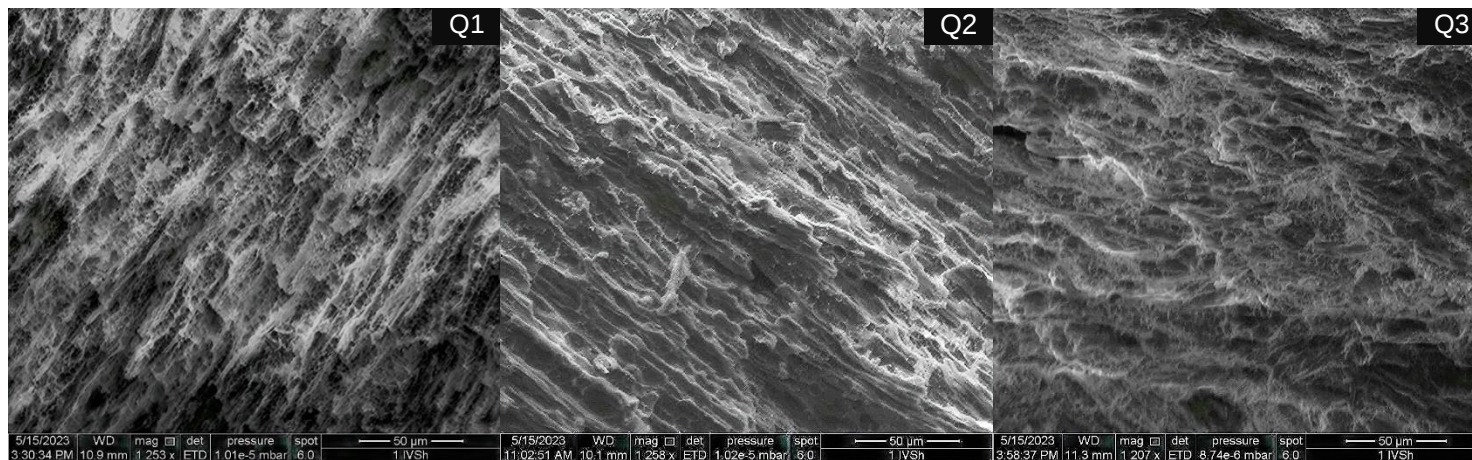


Figura 8. Serie de micrografías de quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca en la temporada de estiaje al día 12 de almacenamiento en las diferentes queserías (Q1: quesería 1; Q2: quesería 2; Q3: quesería 3) de quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca. La barra en las imágenes corresponde a 50 µm.

Mehta (2018) menciona que en el estiramiento con agua caliente del proceso de elaboración del queso Mozzarella, las proteínas se convierten en fibras alineadas en dirección al estiramiento. En el caso de los canales séricos se encuentran en el espacio que se forma entre las fibras de proteína, estos contienen agua, proteína séricas residuales, minerales, células bacterianas y glóbulos de grasa (Everett, 2007). Además, durante el almacenamiento del queso hay cambios en la estructura debido a la redistribución de las moléculas de proteína y agua. A los dos días de almacenamiento el agua es absorbida por la matriz proteica (Kuo & Gunasekaran, 2009). Por otro lado, Everett (2007), mencionan que después de 10 días de almacenamiento del queso Mozzarella, la matriz de caseína absorbe la humedad provocando que la β – caseína se disocie parcialmente de la matriz de caseína debido a la disminución de las fuerzas de asociación hidrofóbica, esto la convierte en la principal caseína intacta en la fase sérica. Así mismo, las proteínas se vuelven menos agregadas y comienzan a asociarse más con la fase acuosa (Everett, 2007).

4.5 Conclusiones

En el caso de la composición fisicoquímica del quesillo se observó que la interacción entre la quesería y las temporadas de evaluación tuvieron un efecto significativo ($p \leq 0.05$) en el contenido de humedad, proteína, grasa, cenizas y pH. Cabe mencionar que no se observó en todas las queserías una disminución o aumento de la composición (humedad, proteína, grasa y cenizas) durante las temporadas de evaluación. Esto pudo deberse a que las queserías tratan de tener en todo el año forraje fresco para el ganado. Por otro lado, el pH fue más elevado en la temporada de lluvias, esto se le puede atribuir al contenido de las BAL, ya que hubo una mayor cuenta en temporada de lluvias.

Por otro lado, en los MA no se encontró una variación entre las temporadas de evaluación, así mismo, el quesillo de la Q2 tuvo una mayor cuenta en comparación a las otras dos queserías. En el caso de las CT, en la temporada de lluvias se observó una mayor presencia, así mismo, Q1 fue la que mayor

coliformes totales tuvo. Además, en la temporada de lluvias hay una mayor cantidad de BAL que en la temporada de estiaje, siendo Q2 con la cuenta más baja. En cuanto al conteo de levaduras, fue mayor en Q3 y en la temporada de lluvias. Finalmente, no se cuantificaron hongos. Se puede decir que el aumento de bacterias en la temporada de lluvias puede deberse a que se favorece el crecimiento microbiano.

En el caso de la firmeza, el quesillo de Q2 tuvo mayor firmeza en comparación a los otros, así mismo, se observó una aumentó de firmeza del día dos al día seis y una disminución de está del día seis al día 12. Por otro lado, se observó una mayor cohesividad en el quesillo de Q1 tanto en temporada de lluvias como de estiaje. El quesillo de Q2 tuvo mayores valores en el parámetro de gomosidad. Se puede decir que la textura del quesillo se ve afectada durante el tiempo de almacenamiento, siendo la degradación proteolítica una de las principales causas, y está se ve reflejada en la firmeza.

En cuanto a la microestructura, se observó la estructura particular del queso pasta filata, esto quiere decir, que se observaron la alineación de hebras de caseína en dirección al estirado, esto debido a la adición de agua caliente durante su proceso de elaboración, así como los canales de lactosuero que se forman entre cada una de las hebras e incluso los espacios que en su momento fueron ocupados por partículas de grasa. En el caso, de la evaluación durante el tiempo de almacenamiento se logró observar cómo se va perdiendo la estructura del queso durante el paso de los días (día 2 a 12), esto se debe a la proteólisis que ocurre en el queso. Por otro lado, en la temporada de estiaje hubo una mayor claridad en la estructura del quesillo, en relación con las hebras de caseína, en comparación al quesillo que se elaboró en la época de lluvias.

4.6 Bibliografia

- Alinovi, M., & Mucchetti, G. (2020). Effect of freezing and thawing processes on high-moisture Mozzarella cheese rheological and physical properties. *LWT - Food Science and Technology*, 124, 109137. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109137>
- Andrade, C., Mandelli, F., Echeverrigaray, S., & Delamare, A. (2008). Microbial dynamics during cheese production and ripening: Physicochemical and biological factors. *Food Global Science Books*, 2(2), 91–101.
- AOAC. (2019). *Official Methods of Analysis* (21st. Edition). AOAC INTERNATIONAL.
- Başaran, A., Yılmaz, T., & Çivi, C. (2023). Experimental investigation and evaluation of the thermodynamical performance of a novel hybrid design for milk pasteurization. *Thermal Science and Engineering Progress*, 44, 102028. <https://doi.org/10.1016/j.tsep.2023.102028>
- Caro, I., Mateo, J., Sandoval, M. H., Soto, S., García-Armesto, M. R., & Castro, J. M. (2013). Characterization of Oaxaca raw milk cheese microbiota with particular interest in Lactobacillus strains. *Journal of Dairy Science*, 96(6), 3461–3470. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6103>
- Castro, R. D., Oliveira, L. G., Sant'Anna, F. M., Luiz, L. M. P., Sandes, S. H. C., Silva, C. I. F., Silva, A. M., Nunes, A. C., Penna, C. F. A. M., & Souza, M. R. (2016). Lactic acid microbiota identification in water, raw milk, endogenous starter culture, and fresh Minas artisanal cheese from the Campo das Vertentes region of Brazil during the dry and rainy seasons. *Journal of Dairy Science*, 99(8), 6086–6096. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10579>
- de Jesus Filho, M., Klein, B., Quintão Teixeira, L. J., Silva, J. G. S., Pallone, J. A. L., Wagner, R., & Godoy, H. T. (2023). The influence of production units and seasons on the physicochemical characteristics, mineral and fatty acid content, and texture profile of the artisanal cheeses from Serra da Canastra, Brazil. *Journal of Food Composition and Analysis*, 123, 105589. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105589>
- Dolci, P., Ferrocino, I., Giordano, M., Pramotton, R., Verneti-Prot, L., Zenato, S., & Barmaz, A. (2020). Impact of Lactococcus lactis as starter culture on microbiota and metabolome profile of an Italian raw milk cheese. *International Dairy Journal*, 110, 104804. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104804>
- Dos Santos Morais, R., Gaiani, C., Borges, F., & Burgain, J. (2022). Interactions Microbe-Matrix in Dairy Products. In P. L. H. McSweeney & J. P. McNamara (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences (Third Edition)* (Third Edition, pp. 133–143). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.23004-7>

- Escobedo-Avellaneda, Z., Espiricueta-Candelaria, R. S., Calvo-Segura, S., Welti-Chanes, J., & Chuck-Hernández, C. (2021). Changes induced by high hydrostatic pressure in acidified and non-acidified milk during Oaxaca cheese production. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(9), 4639–4649. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ijfs.15134>
- Everett, D. W. (2007). Microstructure of Natural Cheeses. In A. Tamime (Ed.), *Structure of Dairy Products* (pp. 170–209). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470995921.ch7>
- Firmo, M. J. N., Menezes, L. D. M., Sales, G. de A., Carvalho, A. F. de, da Costa, N. M. E. P. de L., Leite Júnior, B. R. de C., & Martins, M. L. (2023). Diagnosis of the microbiological quality of fiscal artisanal Minas cheese samples. *Food Control*, 153, 109887. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109887>
- Fuentes, L., Mateo, J., Quinto, E. J., & Caro, I. (2015). Changes in quality of nonaged pasta filata Mexican cheese during refrigerated vacuum storage. *Journal of Dairy Science*, 98(5), 2833–2842. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8152>
- González-Córdova, A. F., Yescas, C., Ortiz-Estrada, Á. M., De la Rosa-Alcaraz, M. de los Á., Hernández-Mendoza, A., & Vallejo-Cordoba, B. (2016). Invited review: Artisanal Mexican cheeses. *Journal of Dairy Science*, 99(5), 3250–3262. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10103>
- Gunasekaran, S., & Ak, M. M. (2002). *Cheese Rheology and Texture* (1st ed.). CRC Press.
- ISO 3433:2008. (2008). *Cheese — Determination of fat content — Van Gulik method*. <https://Cdn.Standards.Itech.Ai/Samples/46336/9860d32562d24d348c2bf1b7e15d782d/ISO-3433-2008.Pdf>.
- Kuo, M.-I., & Gunasekaran, S. (2009). Effect of freezing and frozen storage on microstructure of Mozzarella and pizza cheeses. *LWT - Food Science and Technology*, 42(1), 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.07.003>
- Maldonado, R., Meléndez, B., Arispe, I., Boeneke, C., Torrico, D., & Prinyawiwatukul, W. (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. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6887>
- Mehta, B. M. (2018). Microstructure of Cheese Products. In *Microstructure of Dairy Products* (pp. 145–179). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118964194.ch7>
- Mendoza-Cuevas, J. A., Santos-Moreno, A., Rosas-Barbosa, B. T., Ybarra-Moncada, Ma. C., Flores-Girón, E., & Guerra-Ramírez, D. (2022). Cambios en el recuento de cuatro grupos bacterianos durante la maduración del Queso de Prensa (Costeño) de Cuajinicuilapa, México. *Revista Mexicana*

de Ciencias Pecuarias, 14(1), 94–109.
<https://doi.org/10.22319/rmcp.v14i1.6121>

- Moncada, M., Astete, C., Sabliov, C., Olson, D., Boeneke, C., & Aryana, K. J. (2015). Nano spray-dried sodium chloride and its effects on the microbiological and sensory characteristics of surface-salted cheese crackers. *Journal of Dairy Science*, 98(9), 5946–5954. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9658>
- NMX-F-733-COFOCALEC-2013. (n.d.). *Sistema Producto Leche - Alimentos - Lácteos - Queso Oaxaca - Denominación, especificaciones y métodos de prueba*. COFOCALEC, A.C.
- NOM-110-SSA1-1994. (n.d.). *Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis*. <Http://Www.Salud.Gob.Mx/Unidades/Cdi/Nom/110ssa14.Html>.
- NOM-243-SSA1-2010. (n.d.). *Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba*.
- NOM-F-317-S-1978. (n.d.). *NORMA OFICIAL MEXICANA “Determinación de pH en Alimentos”*. Https://Dof.Gob.Mx/Nota_detalle.Php?Codigo=4704689&fecha=23/05/1978#gsc.Tab=0.
- Oca-Flores, E. M. de, Espinoza-Ortega, A., & Arriaga-Jordán, C. M. (2019). Technological and physicochemical properties of milk and physicochemical aspects of traditional Oaxaca cheese. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 10(2), 367–378. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i2.4291>
- Ott, L., & Longnecker, M. (2010). *An Introduction to Statistical Methods and Data Analysis* (6th ed.). Cole, Cengage Learning.
- Ruvalcaba-Gómez, J. M., Delgado-Macuil, R. J., Zelaya-Molina, L. X., Maya-Lucas, O., Ruesga-Gutiérrez, E., Anaya-Esparza, L. M., Villagrán-de la Mora, Z., López-de la Mora, D. A., & Arteaga-Garibay, R. I. (2020). Bacterial Succession through the Artisanal Process and Seasonal Effects Defining Bacterial Communities of Raw-Milk Adobera Cheese Revealed by High Throughput DNA Sequencing. *Microorganisms*, 9(1), 24. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010024>
- Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E., & Vernon-Carter, E. J. (2004). Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers. *International Dairy Journal*, 14(2), 151–159. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00166-3](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00166-3)
- Sandoval-Copado, J., Orozco-Villafuerte, J., Pedrero-Fuehrer, D., & Colín-Cruz, M. A. (2016). Sensory profile development of Oaxaca cheese and relationship with physicochemical parameters. *Journal of Dairy Science*, 99(9), 7075–7084. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10833>

- Villegas, A., Santos, A., & Cervantes, F. (2016). *Los quesos mexicanos tradicionales*. Juan Pablos Editor.
- Yang, C., You, L., Kwok, L.-Y., Jin, H., Peng, J., Zhao, Z., & Sun, Z. (2021). Strain-level multiomics analysis reveals significant variation in cheeses from different regions. *LWT - Food Science and Technology*, *151*, 112043. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112043>
- Zhang, M., Dong, X., Huang, Z., Li, X., Zhao, Y., Wang, Y., Zhu, H., Fang, A., & Giovannucci, E. L. (2023). Cheese consumption and multiple health outcomes: an umbrella review and updated meta-analysis of prospective studies. *Advances in Nutrition*, *14*(5), 1170–1186. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.advnut.2023.06.007>

5 ESTUDIO METAGENÓMICO DEL QUESILLO TRADICIONAL DE REYES ETLA, OAXACA

5.1 Resumen

El quesillo es un queso de pasta filata, elaborado con leche cruda. Las características de un queso tradicional se deben a diversos factores (materia prima, clima, entre otras), que a su vez influyen en la composición final de las comunidades microbianas. Por otro lado, la metagenómica de shotgun (SM) da una descripción casi completa del ecosistema, así como la identificación de bacterias a nivel especie. Se considera que el quesillo tiene una gran diversidad microbiana que le brinda características particulares. Por lo que, se caracterizó la biodiversidad del microbioma del quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca, asociada con la temporada de elaboración, empleando la técnica metagenómica shotgun. Las muestras se obtuvieron de tres queserías (Q1, Q2 y Q3) ubicadas en Reyes Etlá, Oaxaca, en las dos temporadas de evaluación (lluvias y estiaje). La extracción del ADN se realizó mediante un kit comercial. Se empleó Illumina NovaSeq-S4 y la librería: Illumina – ADN - todo el genoma. La diversidad α se determinó mediante los índices de Shannon y Simpson. Sólo se utilizaron géneros y especies con una abundancia relativa ≥ 1 %. En Q1 se observó un mayor índice de diversidad, tanto en la temporada de lluvias como de estiaje. En las tres queserías se identificaron 16 géneros en la temporada de lluvias, mientras que en la temporada de estiaje fueron 17. Por otro lado, se determinaron 17 diferentes especies en las dos temporadas evaluadas. Los géneros más abundantes de BAL fueron *Lactococcus*, *Streptococcus* y *Enterococcus*, mientras que las especies más abundantes fueron *Lactococcus lactis* y *Staphylococcus aureus*. Se considera que hubo un cambio en la microbiota del quesillo en las queserías y temporadas de evaluación, ya que se observaron diferencias en el porcentaje abundancia.

Palabras clave

Quesillo, metagenómica, BAL, género, especies.

METAGENOMIC STUDY OF TRADITIONAL CHEESE FROM REYES ETLA, OAXACA

Abstract

Quesillo is a pasta filata cheese, made with raw milk. The characteristics of a traditional cheese are due to various factors (raw material, climate, among others), which in turn influence the final composition of the microbial communities. On the other hand, shotgun metagenomics (SM) gives an almost complete description of the ecosystem, as well as the identification of bacteria at the species level. It is considered that quesillo has a great microbial diversity that gives it particular characteristics. Therefore, the biodiversity of the microbiome of the quesillo from Reyes Etlá, Oaxaca, associated with the production season, was characterized using the shotgun metagenomics technique. The samples were obtained from three cheese factories (Q1, Q2 and Q3) located in Reyes Etlá, Oaxaca, in the two evaluation seasons (rainy and dry). DNA extraction was performed using a commercial kit. Illumina NovaSeq-S4 and the library: Illumina – DNA – the entire genome was used. The α diversity was determined using the Shannon and Simpson indices. Only genera and species with a relative abundance $\geq 1\%$ were used. In Q1, a higher diversity index was observed, both in the rainy and dry seasons. In the three cheese factories, 16 genera were identified in the rainy season, while in the dry season there were 17. On the other hand, 17 different species were determined in the two seasons evaluated. The most abundant genera of LAB were *Lactococcus*, *Streptococcus* and *Enterococcus*, while the most abundant species were *Lactococcus lactis* and *Staphylococcus aureus*. It is considered that there was a change in the cheese microbiota in the cheese factories and evaluation seasons, since differences were observed in the percentage of abundance.

Key words

Quesillo, metagenomics, LAB, genera, species.

Thesis of Master Science, Program of Agro-Food Science and Technology, Universidad Autónoma Chapingo

Author: Lissette Peralta Flores

Thesis Director: Ofelia Sandoval Castilla, Dra.

5.2 Introducción

El quesillo o queso Oaxaca, es considerado como uno de los quesos más populares en México, aún es elaborado de manera tradicional en pequeñas queserías, empleando leche cruda. Este queso pertenece a la clasificación de quesos de pasta hilada o filata (Caro et al., 2011). Pasta filata, hace referencia al proceso del estiramiento de la cuajada, la cual se sumerge en agua caliente logrando la consistencia plástica, al ser estirada se logra la consistencia homogénea con una estructura fibrosa (Marino et al., 2019).

Se considera que la elaboración de quesos de manera tradicional tiene una gran importancia en las características específicas del producto final (Suárez et al., 2020b), ya que surgen de las materias primas, el área de producción, las condiciones ambientales, la estación y el empleo de las herramientas tradicionales. Así mismo, esto influye en la composición de las comunidades microbianas que son responsables de una gran diversidad de sabores, aromas y texturas (Aldrete-Tapia et al., 2014; Nam et al., 2021).

Por otro lado, la microbiota de cada queso es diferente, esto debido al tipo y al proceso de elaboración del queso, así mismo, a la producción de ácido láctico, al pH, entre otros, que favorecen a la microbiota del queso, además, durante la elaboración de éste, se integran poblaciones secundarias a partir de los ingredientes o del medio ambiente. Se considera que la población iniciadora y secundaria trabajan en conjunto produciendo ácido láctico, aminoácidos libres, entre otros compuestos (Nam et al., 2021).

Se considera que el análisis metagenómico en alimentos tradicionales es una herramienta muy útil para obtener información (Suárez et al., 2020b), ya que genera nuevos conocimientos sobre la diversidad y las características metabólicas de las especies microbianas que se encuentran en los quesos (Duru et al., 2018).

En el caso de la metagenómica de shotgun (SM) o de escopeta, el ADN es fragmentado, por lo tanto, se secuencian los genomas microbianos fragmentados

de toda la comunidad microbiana (De Filippis et al., 2021; Quince et al., 2017), dando como resultado una descripción casi completa del ecosistema, así como la identificación de bacterias a nivel especie, lo que ayuda a determinar tanto especies patógenas como no patógenas, además, se detectan fagos / virus (De Filippis et al., 2021).

En el caso del quesillo al ser elaborado de manera tradicional, se considera que tiene una gran diversidad microbiana que le brinda características particulares al producto final. En el caso del queso Oaxaca, sólo se han identificado BAL empleando el gen 16S rRNA (Caro et al., 2015, Caro et al. 2020), no se ha identificado el microbioma a nivel especie en las diferentes temporadas de elaboración (lluvias y estiaje). Por lo tanto, se caracterizó la biodiversidad del microbioma del quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca, asociada con la temporada de elaboración, empleando la técnica metagenómica shotgun.

5.3 Materiales y Métodos

5.3.1 Muestras evaluadas

Las muestras de quesillo se obtuvieron de tres queserías ubicadas en Reyes Etlá, Oaxaca, en la época de lluvias (octubre 2022) y estiaje (febrero 2023). Se transportaron en condiciones de refrigeración (4 ± 0.5 °C) para su posterior análisis (Oca-Flores et al., 2019). Las muestras se codificaron como Q1, Q2 y Q3.

5.3.2 Extracción del ADN metagenómico

La extracción del ADN de las muestras de quesillo de ambas temporadas se realizó en el laboratorio de Genética Molecular del Departamento de Zootecnia ubicado en la Universidad Autónoma Chapingo.

La extracción de ADN (6 muestras de quesillo obtenido en tres diferentes queserías durante el tiempo de lluvias y secas) se realizó mediante un kit comercial “Zymo Research” (ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep Kit; EUA). Se basó en el procedimiento establecido por el kit con ligeras modificaciones. Primeramente, se adicionó 5 g de muestra de quesillo al tubo ZR BashingBead

Lysis y 750 µL de ZymoBIOMICS Lysis Solution, a éste se le adicionó 100 µL de proteinasa K (Guangzhou Dongsheng Biotech Co., Ltd, China) y se incubó 55 ± 5 °C por 1 h y se centrifugó (12000 rpm durante 5 min). Después se transfirieron 300 - 400 µL del sobrenadante al filtro Zymo-Spin III-F, se colocó un tubo nuevo para colectar el fluido. Se centrifugó a 8000 rpm durante 1 min, y se desechó el filtro Zymo-Spin III-F, se le adicionó 1200 µL del buffer ZymoBIOMICS DNA Binding al líquido resultante del paso anterior y se mezcló suavemente. Posteriormente, se transfirieron 800 µL de la mezcla del paso anterior a la columna Zymo-Spin IICR colocada en un tubo nuevo, se centrifugó a 10000 rpm durante 1 min y se desechó el líquido obtenido.

Enseguida se adicionaron 400 µL de buffer 1 ZymoBIOMICS DNA Wash a la columna Zymo-Spin IICR y se centrifugó a 10000 rpm durante 1 min, se desechó el líquido y se agregaron 700 µL del buffer 2 ZymoBIOMICS DNA Wash a la columna Zymo-Spin II CR y se centrifugó a 10000 rpm durante 1 min, se desechó el líquido. A éste se le adicionaron 200 µL del buffer 2 ZymoBIOMICS DNA Wash a la columna Zymo-Spin II CR y se centrifugó a 10000 rpm durante 1 min, se desechó el líquido. Después se transfirió la columna Zymo-Spin II CR a un tubo nuevo, se agregaron 100 µL de ZymoBIOMICS DNA/RNA Free Water e incubaron durante 1 min. Se centrifugaron a 10000 rpm durante 1 min, se conservó el líquido. Se colocó un nuevo filtro Zymo-Spin III HRC a un tubo nuevo y se adicionaron 600 µL de Zymo BIOMICS HRC Prep Solution, se centrifugó a 8000 rpm durante 3 min, se desechó el líquido. Posteriormente, se transfirió el DNA eluido al filtro Zymo-Spin III HRC y se centrifugó a 14000 rpm durante 3 min. Finalmente, se determinó concentración y pureza mediante un espectrofotómetro Nanodrop 1000 (NanoDrop Technologies, Inc., Wilmington, EUA). En donde la concentración y la calidad se determinaron por la relación de la absorbancia a 260 y 280 nm.

5.3.3 Análisis bioinformático de las secuencias

Las muestras se mandaron a secuenciar a Oklahoma, Estados Unidos, donde se empleó Illumina NovaSeq-S4, librería: Illumina – ADN- todo el genoma. En el caso,

de la calidad de la secuenciación de ADN se empleó FastQC v.O.12.1, posteriormente las secuencias se filtraron y limpiaron con JGIRQCFilter v38.22. Para la clasificación taxonómica se empleó KAIJU v1.9.0 (Menzel et al., 2016). El análisis estadístico se empleó SigmaPlot v13.0.

La diversidad α se determinó empleando los índices de Shannon y Simpson (Wadhawan et al., 2021). Sólo se utilizaron géneros y especies con una abundancia relativa $\geq 1\%$ para la elaboración de las gráficas en RStudio (versión 4.3.1; <https://www.r-project.org/>).

5.4 Resultados y discusión

Se entiende que los índices de Shannon y Simpson indican la diversidad que existe en una comunidad. En el caso del índice Shannon valores mayores de tres indican que hay una mayor diversidad de especies en una comunidad (Pla, 2006), mientras que en el caso del índice de Simpson valores cercanos a uno, mayor diversidad de especies (Morris et al., 2014).

En el Cuadro 12 se observó el porcentaje de abundancia, el índice de Shannon y el índice de Simpson de los géneros identificados en el quesillo de las diferentes queserías (Q1, Q2 y Q3) evaluadas en la temporada de lluvias (L) y estiaje (E).

Cuadro 12. Evaluación de la diversidad de género en tres queserías de quesillo de Reyes Etla, Oaxaca, evaluados en la temporada de lluvias y estiaje.

Quesería	Temporada	Género	% Abundancia	Índice Shannon	Índice Simpson
Q1	L	74	65.84	2.42	0.83
	E	72	62.11	2.87	0.90
Q2	L	47	62.53	2.38	0.82
	E	53	63.75	1.23	0.42
Q3	L	62	68.92	2.71	0.89
	E	66	73.86	2.60	0.87

Elaboración propia: datos experimentales.

Se observó en el Cuadro 12 que el quesillo de Q1 de la temporada de estiaje fue bajo en porcentaje de abundancia (62.11 %), pero tiene una mayor riqueza de géneros en comparación a la temporada de lluvias. Esto debido a que su índice

de Shannon fue cercano a tres (2.87) y a uno (0.90), respectivamente. En el caso del quesillo de Q2 se percibió en la temporada de lluvias, bajo número de géneros (47), así mismo, un porcentaje de abundancia menor (62.53 %), a pesar de eso tiene una mayor riqueza, ya que el índice de Shannon fue próximo a tres (2.38) y el índice de Simpson a uno (0.82) en comparación a la temporada de estiaje. Por otro lado, en la quesería 3 se identificó una mayor riqueza de género en la temporada de lluvias con 62, esto se debe a que el índice de Shannon y el de Simpson fueron cercanos a tres (2.71) y a uno (0.89), respectivamente. Por otra parte, el quesillo de Q1 evaluado en la temporada de estiaje fue el que presentó una mayor riqueza en cuanto a género.

En el Cuadro 13 se observa el porcentaje de abundancia, el índice de Shannon y el índice de Simpson de las especies identificadas en el quesillo de las diferentes queserías (Q1, Q2 y Q3) evaluado en la temporada de lluvias (L) y estiaje (E).

Cuadro 13. Evaluación de diversidad de especies de tres queserías de quesillo de Reyes Etla, Oaxaca, en la temporada de lluvias y estiaje.

Quesería	Temporada	Especies	% Abundancia	Índice Shannon	Índice Simpson
Q1	L	167	34.23	3.72	0.95
	E	112	52.59	3.07	0.89
Q2	L	100	44.38	2.92	0.88
	E	102	33.78	2.03	0.63
Q3	L	102	61.13	2.93	0.88
	E	147	49.23	3.35	0.92

Elaboración propia: datos experimentales.

Se observó (Cuadro 13) que el quesillo de la Q1 de la temporada de lluvias es bajo en el porcentaje de abundancia, pero rico en especie en comparación a la temporada de estiaje, ya que el índice de Shannon fue mayor a tres (3.72), mientras que en el de Simpson es el más cercano a 1 (0.95). Por otro lado, en el quesillo de Q2 de la temporada de lluvias se observó una mayor abundancia (%) y diversidad en comparación a la temporada de estiaje, ya que el índice de Shannon fue superior a tres (3.92), mientras que el índice de Simpson fue de 0.88. En el caso del quesillo de Q3 se encontró en la temporada de estiaje una

mayor riqueza en diversidad en comparación a la temporada de lluvias, ya que el índice de Shannon fue de 3.35 y el de Simpson de 0.92. Por lo tanto, el quesillo de la Q1 tuvo un mayor índice de diversidad, tanto en la temporada de lluvias como de estiaje, ya que los valores obtenidos de Shannon fueron mayores de 3, mientras que en el índice de Simpson cercanos a 1.

Celano et al. (2022) mencionan que la temperatura y la humedad ambiental son los principales parámetros que dan forma a los ecosistemas microbianos, esto quiere decir que las variaciones en la abundancia de taxones deben estudiarse cuidadosamente en función a la estacionalidad, ya que los factores ambientales influyen directamente en la microbiota del tejido mamario, y esto afecta a la comunidad microbiana de la leche cruda, que a su vez, se ve reflejado en la microbiota de los quesos elaborados con leche cruda.

Por otro lado, Aldrete-Tapia et al. (2014) observaron que durante la temporada de estiaje la diversidad de poblaciones microbianas de productos lácteos era menor en comparación a la estación de lluvias, mientras que, Nam et al. (2021) encontraron que la riqueza microbiana fue mayor en la temporada de lluvias que en temporada de estiaje, así mismo, la riqueza y diversidad entre queserías tuvo una variación. En esta investigación, no se observó una relación con el aumento o disminución de la diversidad microbiana con la estación de producción, ya que en Q2 y Q3 se observó una mayor diversidad en géneros en la temporada de lluvias, mientras que en Q1 en la temporada de estiaje, en cambio, en el nivel taxonómico de especie se determinó que en Q1 y Q2 existió una mayor diversidad en la temporada de lluvias, mientras que Q3 en la temporada de estiaje, lo cual puede ser atribuible a diferentes factores, como es el caso de la alimentación de los animales, el clima y el sistema de producción que puede afectar la composición nutricional de la leche y por lo tanto, a las diversas comunidades microbianas en la leche (Aldrete-Tapia et al., 2014; Nam et al., 2021).

En la Figura 9 se observan las abundancias relativas de los 16 diferentes géneros encontrados en los quesillos (Q1, Q2 y Q3) en la temporada de lluvias (Figura 9

A) y los 17 diferentes géneros en la temporada de estiaje (Figura 1B) en el quesillo de las diferentes queserías evaluadas. En la temporada de lluvias se pudo observar la abundancia relativa de los diferentes géneros encontrados en Q1, Q2 y Q3. En el caso de Q1 el género con mayor abundancia relativa (%) fue *Streptococcus*, seguido de *Lactobacillus*, *Lactococcus* y *Staphylococcus*, por otro lado, en Q2 se observó a *Lactococcus*, mientras que en Q3 a *Staphylococcus*. Por otra parte, en la temporada de estiaje para Q1 el género con mayor abundancia relativa era *Staphylococcus*, mientras tanto para Q2 *Lactococcus*. En el caso de Q3 los géneros con mayor abundancia relativa (%) fueron *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Staphylococcus*.

Se observaron variaciones en la abundancia relativa de los géneros encontrados en el quesillo de las tres queserías evaluadas en la temporada de lluvias (A) y estiaje (B). En el caso de Q2 y Q3 se identificó una menor abundancia del género *Staphylococcus* en la temporada de estiaje en comparación a la temporada de lluvias. Pero en Q1 se observó todo lo contrario, ya que, el género de *Staphylococcus* tuvo una mayor abundancia en la temporada de estiaje.

Se ha identificado como principal grupo microbiano a las bacterias ácido - lácticas (BAL) en los quesos elaborados de manera artesanal. Los géneros que se encontraron son *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Enterococcus*. Las BAL se encuentran de manera natural en la leche cruda o son adicionadas de manera intencional durante el proceso de elaboración del queso, las cuales se encuentran asociadas a propiedades como el sabor, la textura y aroma (Martins et al., 2018).

Se identificó que, en la temporada de lluvias, los géneros más abundantes de BAL fueron *Lactococcus*, *Streptococcus* y *Enterococcus*, también se observó *Lactobacillus* con una abundancia $\geq 1\%$ en Q1. Por otra parte, en la temporada de estiaje se distinguieron *Lactococcus*, *Streptococcus* y *Enterococcus* como los géneros de las BAL con mayor diversidad. En el caso de Q1 se identificó al género *Leuconostoc*, mientras que en Q3 el género *Lactobacillus*.

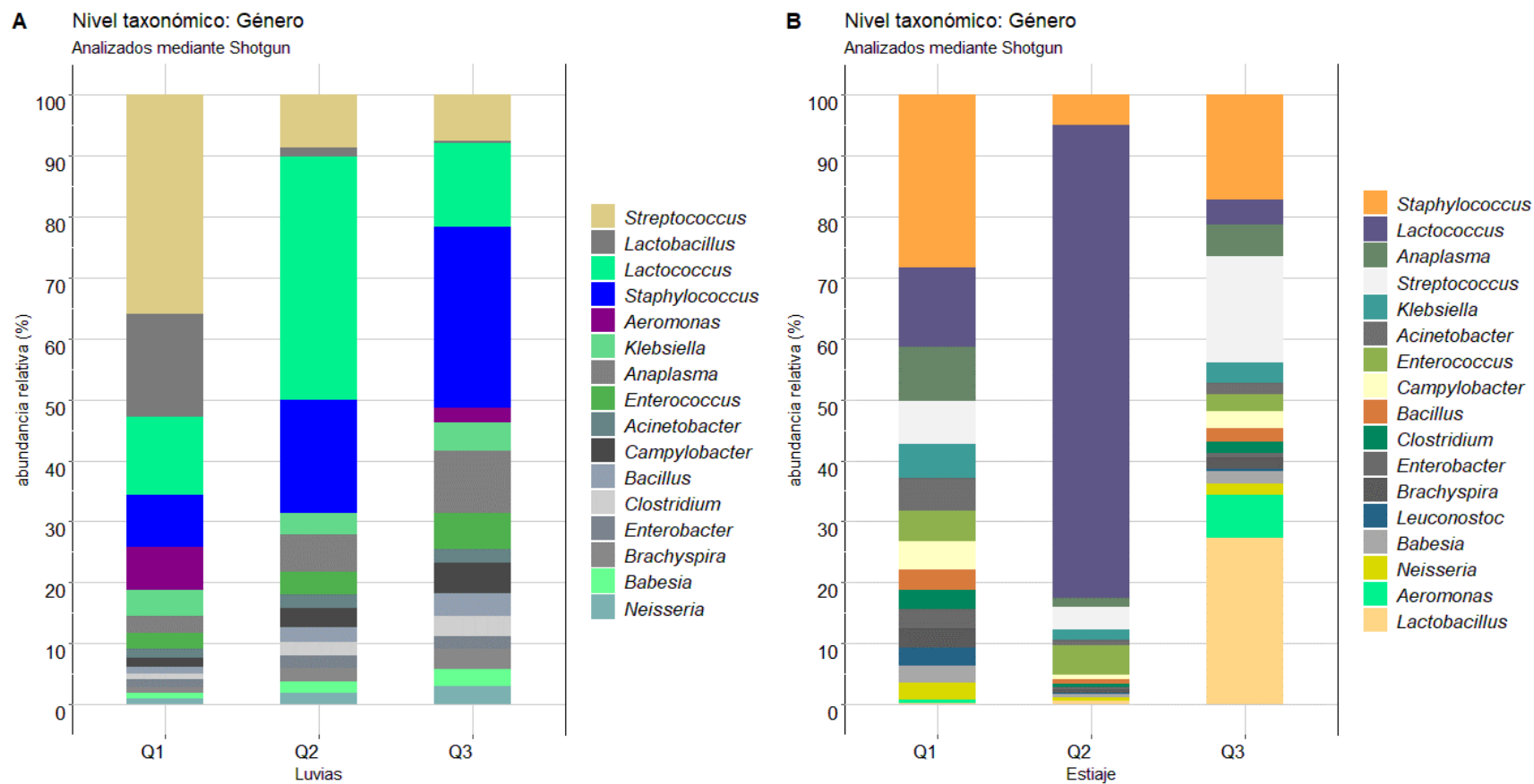


Figura 9. Porcentaje de abundancia de género en el quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca. Evaluado en la temporada de lluvias (A) y estiaje (B) en las diferentes queserías (Q1 = quesería 1, Q2 = quesería 2, Q3 = quesería 3).

A continuación, en la siguiente Figura 10, se observan la abundancia relativa de las 17 diferentes especies encontradas en los quesillos de Q1, Q2 y Q3 en las diferentes temporadas de evaluación, lluvias (A) y estiaje (B).

En la temporada de lluvias, se observó una diferencia de abundancia relativa de las especies del quesillo entre las tres queserías evaluadas. En este caso *Staphylococcus aureus* fue la especie con mayor abundancia relativa en las tres queserías, seguida de *Lactococcus lactis*, asimismo, se percibieron especies como *Lactobacillus helveticus*, *Streptococcus suis*, *Streptococcus salivarius* y *Streptococcus thermophilus*. Por otro lado, en Q2 se identificó un mayor porcentaje de *Lactococcus lactis* en comparación a las otras dos queserías, así mismo, un menor número de especies (11). En el caso de la temporada de estiaje, *Staphylococcus aureus* fue la especie más abundante en Q1 y Q3, mientras que en Q2 *Lactococcus lactis*, así mismo, se observó una disminución en los porcentajes de abundancia de las otras especies.

Por otro lado, se pudo observar en Q2 y Q3 una disminución de *Staphylococcus aureus* en la temporada de estiaje, mientras que Q1 un aumento. En el caso de *Lactococcus lactis*, se observó que en la temporada de estiaje para Q1 y Q3 hubo una disminución del porcentaje de abundancia de esta especie en comparación a la temporada de lluvias, en tanto, en Q2 fue lo contrario, ya que fue la especie con mayor abundancia. Además, en Q3 se observó un incremento en abundancia de *Lactobacillus helveticus*.

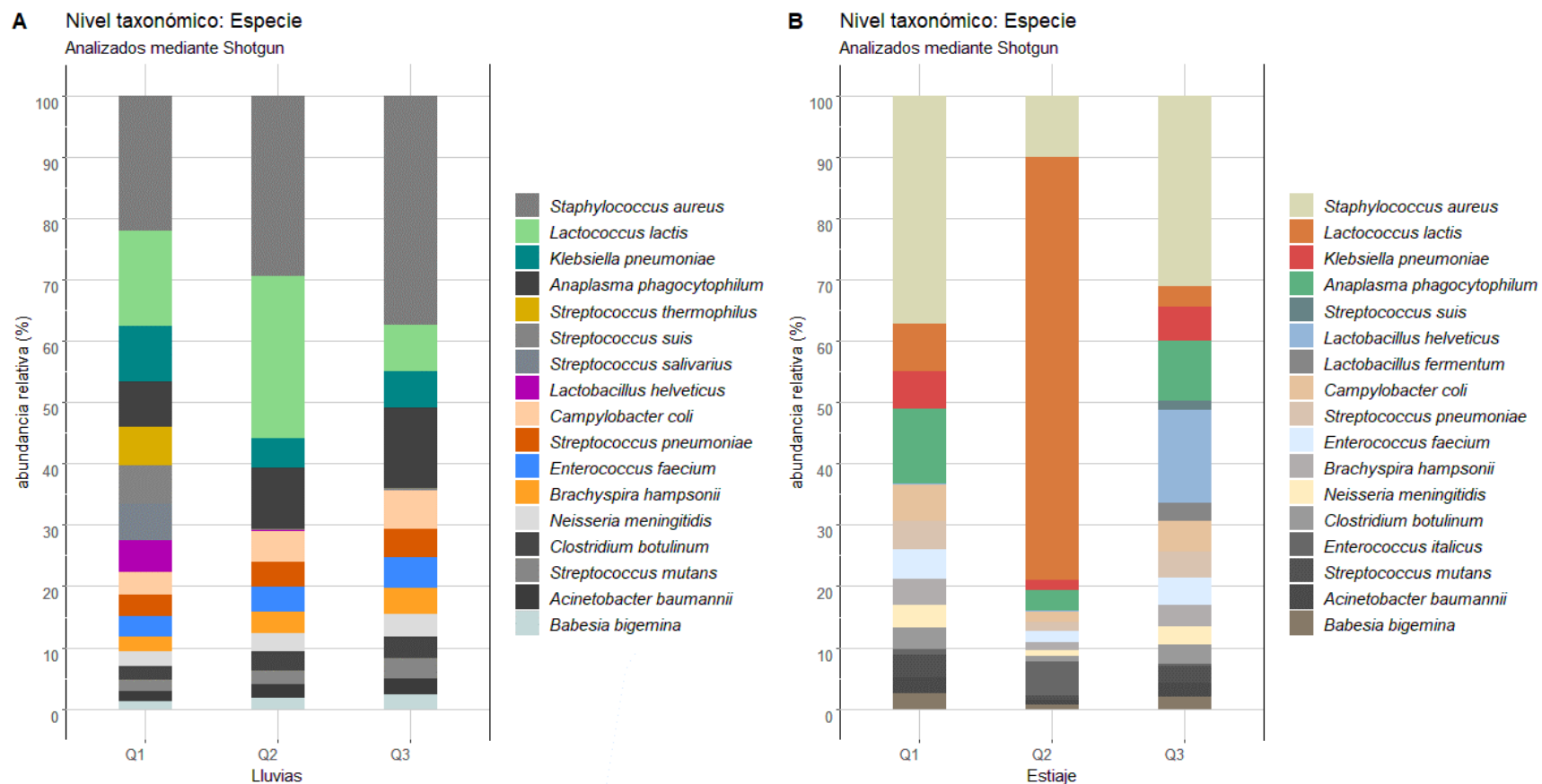


Figura 10. Porcentaje de abundancia de especie en el quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca. Evaluado en la temporada de lluvias (A) y estiaje (B) en las diferentes queserías (Q1 = quesería 1, Q2 = quesería 2, Q3 = quesería 3).

Se observó que los géneros que predominaron durante las dos temporadas de evaluación en el quesillo fueron *Lactococcus*, *Staphylococcus* y *Streptococcus*. En el caso de las especies, *Staphylococcus aureus* y *Lactococcus lactis* fueron las que tuvieron una mayor presencia en los quesos y en las dos temporadas de evaluación. Por otro lado, se identificaron otros géneros y especies abundantes en algunas queserías durante la temporada de lluvias y estiaje, como *Lactobacillus*, y las especies de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* y *Lactobacillus fermentum*. En el caso, Martins et al. (2018) mencionan que en el queso de minas elaborado en la temporada de lluvias se identificaron los géneros *Lactococcus* y *Weisella*, mientras que, para la temporada de secas, se encontraron los géneros *Enterococcus* y *Lactobacillus*. Por otro lado, en el queso adobera elaborado con leche cruda se observaron con mayor abundancia los géneros *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus* y *Pseudomonas* (Ruvalcaba-Gómez et al., 2020). Por otro parte, en el queso de Bola de Ocosingo, las especies dominantes de las BAL fueron *S. thermophilus*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus* y *L. lactis* (Aldrete-Tapia et al., 2018). Lo cual difiere con lo que se encontró en esta investigación. Estas diferencias que se observaron en la biodiversidad se pueden deber a factores, como la composición química de la leche que varía con las temporadas de producción, el proceso de elaboración y las condiciones ambientales de cada lugar, por mencionar algunos (Terzic-Vidojevic et al., 2014).

Tomando en cuenta los resultados de pH del capítulo dos, se pudo observar que el pH fue menor en la temporada de estiaje, esto pudo deberse al porcentaje de abundancia de Bacterias -ácido lácticas, ya que algunas de las especies que se encontraron pertenecen a los géneros *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* y *Leuconostoc*. Por otro lado, Q3 fue la que menor pH obtuvo en la temporada de estiaje, puede ser atribuible al porcentaje de abundancia de *Lactobacillus* y en un menor porcentaje a *Lactococcus* y *Enterococcus*. Por otro lado, las especies BAL más abundantes fueron *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus fermentum*, *Streptococcus suis* y *Enterococcus faecium*.

Se considera que las BAL, producen ácido láctico, y otros compuestos como el diacetilo, acetona y acetaldehído (Gezginc et al., 2022), que ayudan en la elaboración del queso, al coagular la leche con la disminución del pH antes de agregar el cuajo (Nam et al., 2021). También contribuyen al sabor del queso y a la inhibición del crecimiento de bacterias patógenas (Gezginc et al., 2022; Nam et al., 2021).

Gezginc et al. (2022) mencionan que los quesos elaborados con leche cruda se encuentran dominados por el género *Lactococcus*, una de sus especies más importantes es *L. lactis*, esto se debe su capacidad para la transformación de la lactosa en lactato, lo que ayuda a la disminución del pH y la producción de metabolitos. Caro et al. (2020) informan que *Lactococcus* fue uno de los géneros predominantes en queso Oaxaca. Por otro lado, los *Lactobacillus*, también son responsables de la acidificación y degradación de las proteínas de la leche (Dimov et al., 2021). En el caso del género *Enterococcus*, se pueden considerar como componentes normales de la microbiota alimentaria de origen animal, y no como indicadores de condiciones sanitarias, ya que con frecuencia se emplean como cultivos complementarios para mejorar las propiedades organolépticas y la producción de bacteriocinas (v.g. *E. faecalis* y *E. faecium*), así mismo, sus actividades acidificantes y proteolíticas son débiles (Graham et al., 2020).

Por otro lado, *Streptococcus thermophilus* se considera como el segundo iniciador lácteo más importante, después de *L. lactis*. Esta especie es ampliamente usada en la elaboración del queso Mozzarella, ya que es capaz de crecer o sobrevivir a las altas temperaturas requeridas para la producción de este queso, así mismo, es responsable de una acidificación rápida, lo que permite la plastificación y el estiramiento de la cuajada en agua caliente, lo que da como resultado el sabor y las propiedades de textura esperadas (Silva et al., 2020).

En el caso de *Staphylococcus aureus*, es considerado como un patógeno oportunista y comúnmente implicada en casos de intoxicación por el consumo de productos lácteos, principalmente los quesos que son elaborados con leche cruda (Martins Souza et al., 2023), pero cabe mencionar que en el caso del

quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca, fue una de las especies con mayor abundancia en algunas queserías, así mismo, es importante enfatizar que no fue el género dominante en todas las queserías, ya que, en algunas se tuvo una abundancia elevada de BAL como *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Enterococcus*, es importante mencionar que varias de las especies encontradas son importantes ya que producen bacteriocinas que ayudan a inhibir o reducir el crecimiento de bacterias patógenas (Feyissa et al., 2023).

Se puede decir que la variación de la microbiota de los quesos elaborados de manera artesanal y la predominancia de algunos géneros en las estaciones pueden influir en las características sensoriales y en los atributos tecnológicos del producto final, a causa de las interacciones que existen entre los microorganismos (Martins et al., 2018).

5.5 Conclusión

La metagenómica por “escopeta” o “shotgun”, contribuyó a secuenciar todo el ADN de las muestras del quesillo de Reyes Etla, Oaxaca, evaluado en la temporada de lluvias y estiaje. Con esto se logró clasificar los microorganismos en los diferentes taxones, como fue el caso de género y especie.

El quesillo de Q1 fue el que tuvo una mayor riqueza en género, así como una mayor diversidad de especies en comparación a las otras dos queserías. Cabe mencionar que en la temporada de estiaje hubo una mayor riqueza en género, pero existió una baja diversidad de especies, mientras que en la temporada de lluvias hubo una menor diversidad de género, sin embargo, una mayor riqueza en especies. Por otro lado, tanto en Q2 como Q3 se observó una mayor riqueza de género en la temporada de lluvias. En el caso de Q2 hubo una mayor diversidad de especies en la temporada de lluvias, mientras que Q3 en la temporada de estiaje.

En el quesillo de las 3 queserías evaluadas se identificaron 16 géneros ($\geq 1\%$) en la temporada de lluvias, mientras que en la temporada de estiaje fueron 17. Por otro lado, se determinaron 17 diferentes especies con una abundancia relativa ($\geq 1\%$) en las dos temporadas evaluadas. Se identificaron *Lactococcus*, *Streptococcus* y *Enterococcus* como los géneros más abundantes de las BAL. Hubo en algunas queserías la presencia de *Lactobacillus* y *Leuconostoc*. En el caso del primer género se observó para Q1 en la temporada de lluvias, mientras que para Q3 en la temporada de estiaje, cabe mencionar que para esta quesería fue el género con mayor abundancia.

Por otra parte, las especies identificadas con mayor abundancia en ambas temporadas fueron *Lactococcus lactis* y *Staphylococcus aureus*. Cabe mencionar que en algunas queserías hubo otras especies con una abundancia $\geq 1\%$, como *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus helveticus* en Q1 durante la temporada de lluvias, mientras que en la temporada de estiaje *Lactobacillus helveticus* en Q3. Además, se identificaron otras especies pertenecientes a las

BAL, pero en una menor diversidad como *Streptococcus suis*, *Enterococcus faecium* y *Lactobacillus fermentum*.

Además de las BAL, se identificaron otras especies oportunistas (*S. aureus*, *K. pneumoniae*, entre otros) que son indicadoras de la higiene de la leche y del proceso de elaboración. A pesar de su abundancia, no nos indican que el quesillo elaborado de manera artesanal sea dañino a la salud del consumidor, ya que estos géneros no fueron los más abundantes, así mismo, algunas de las BAL identificadas producen ácidos orgánicos y bacteriocinas que inhiben o disminuyen el crecimiento de estas bacterias.

Por lo tanto, se considera que hubo un cambio en la microbiota del quesillo durante las temporadas y las queserías evaluadas, ya que entre las queserías y las temporadas se observaron diferencias en el porcentaje abundancia. Es importante mencionar que es necesario que los queseros apliquen buenas prácticas de ordeña y de manufactura con el fin de mejorar la calidad final del producto.

5.6 Bibliografía

- Aldrete-Tapia, A., Escobar-Ramírez, C. M., Tamplin, M. L., & Hernández-Iturriaga, M. (2018). Characterization of Bacterial Communities in Mexican Artisanal Raw Milk “Bola de Ocosingo” Cheese by High-Throughput Sequencing. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02598>
- Aldrete-Tapia, A., Escobar-Ramírez, M. C., Tamplin, M. L., & Hernández-Iturriaga, M. (2014). High-throughput sequencing of microbial communities in Poro cheese, an artisanal Mexican cheese. *Food Microbiology*, 44, 136–141. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.05.022>
- Caro, I., Bécares, G., Fuentes, L., García-Armesto, M. R., Rúa, J., Castro, J. M., Quinto, E. J., & Mateo, J. (2015). Evaluation of three PCR primers based on the 16S rRNA gene for the identification of lactic acid bacteria from dairy origin. *CyTA - Journal of Food*, 13(2), 181–187. <https://doi.org/10.1080/19476337.2014.934297>
- Caro, I., Quinto, E. J., Fuentes, L., Alessandria, V., Cocolin, L. S., Redondo-del-Río, M. P., Mayo, B., Flórez, A. B., & Mateo, J. (2020). Characterization of Lactococcus strains isolated from artisanal Oaxaca cheese. *LWT*, 122, 109041. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109041>
- Caro, I., Soto, S., Franco, M. J., Meza-Nieto, M., Alfaro-Rodríguez, R. H., & Mateo, J. (2011). Composition, yield, and functionality of reduced-fat Oaxaca cheese: Effects of using skim milk or a dry milk protein concentrate. *Journal of Dairy Science*, 94(2), 580–588. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3102>
- Celano, G., Calasso, M., Costantino, G., Vacca, M., Ressa, A., Nikoloudaki, O., De Palo, P., Calabrese, F. M., Gobbetti, M., & De Angelis, M. (2022). Effect of Seasonality on Microbiological Variability of Raw Cow Milk from Apulian Dairy Farms in Italy. *Microbiology Spectrum*, 10(5). <https://doi.org/10.1128/spectrum.00514-22>
- De Filippis, F., Valentino, V., Alvarez-Ordóñez, A., Cotter, P. D., & Ercolini, D. (2021). Environmental microbiome mapping as a strategy to improve quality and safety in the food industry. *Current Opinion in Food Science*, 38, 168–176. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.11.012>
- Dimov, S. G., Gyurova, A., Zagorchev, L., Dimitrov, T., Georgieva-Miteva, D., & Peykov, S. (2021). NGS-Based Metagenomic Study of Four Traditional Bulgarian Green Cheeses from Tcherni Vit. *LWT*, 152, 112278. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112278>
- Duru, I. C., Laine, P., Andreevskaya, M., Paulin, L., Kananen, S., Tynkkynen, S., Auvinen, P., & Smolander, O.-P. (2018). Metagenomic and metatranscriptomic analysis of the microbial community in Swiss-type Maasdam cheese during ripening. *International Journal of Food Microbiology*, 281, 10–22. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.05.017>

- Feyissa, N., Alemu, T., Jirata Birri, D., & Dessalegn, A. (2023). Isolation, identification, and determination of antibiogram characteristics of *Staphylococcus aureus* in cow milk and milk products (yoghurt and cheese) in West Showa Zone, Ethiopia. *International Dairy Journal*, 137, 105503. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105503>
- Gezginc, Y., Karabekmez-Erdem, T., Tatar, H. D., Dağgeçen, E. C., Ayman, S., & Akyol, İ. (2022). Metagenomics and volatile profile of Turkish artisanal Tulum cheese microbiota. *Food Bioscience*, 45, 101497. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101497>
- Graham, K., Stack, H., & Rea, R. (2020). Safety, beneficial and technological properties of enterococci for use in functional food applications – a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(22), 3836–3861. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1709800>
- Marino, M., Dubsky de Wittenau, G., Saccà, E., Cattonaro, F., Spadotto, A., Innocente, N., Radovic, S., Piasentier, E., & Marroni, F. (2019). Metagenomic profiles of different types of Italian high-moisture Mozzarella cheese. *Food Microbiology*, 79, 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.12.007>
- Martins, M. C. de F., Freitas, R. de, Deuvaux, J. C., Eller, M. R., Nero, L. A., & Carvalho, A. F. de. (2018). Bacterial diversity of artisanal cheese from the Amazonian region of Brazil during the dry and rainy seasons. *Food Research International*, 108, 295–300. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.060>
- Martins Souza, M. A., Cunha da Silva, G., Lopes, U., Rosa, J. N., Soares Bazzolli, D. M., & de Jesus Pimentel-Filho, N. (2023). Characterisation of *Staphylococcus aureus* isolated from artisanal unripened cheeses produced in São Paulo State, Brazil. *International Dairy Journal*, 105825. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105825>
- Menzel, P., Ng, K. L., & Krogh, A. (2016). Fast and sensitive taxonomic classification for metagenomics with Kaiju. *Nature Communications*, 7(1), 11257. <https://doi.org/10.1038/ncomms11257>
- Morris, E. K., Caruso, T., Buscot, F., Fischer, M., Hancock, C., Maier, T. S., Meiners, T., Müller, C., Obermaier, E., Prati, D., Socher, S. A., Sonnemann, I., Wäschke, N., Wubet, T., Wurst, S., & Rillig, M. C. (2014). Choosing and using diversity indices: insights for ecological applications from the German Biodiversity Exploratories. *Ecology and Evolution*, 4(18), 3514–3524. <https://doi.org/10.1002/ece3.1155>
- Nam, J. H., Cho, Y. S., Rackerby, B., Goddik, L., & Park, S. H. (2021). Shifts of microbiota during cheese production: impact on production and quality. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(6), 2307–2318. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11201-5>
- Oca-Flores, E. M. de, Espinoza-Ortega, A., & Arriaga-Jordán, C. M. (2019). Technological and physicochemical properties of milk and

- physicochemical aspects of traditional Oaxaca cheese. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 10(2), 367–378. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i2.4291>
- Pla, L. (2006). Biodiversidad: Inferencia basada en el índice de Shannon y la riqueza. *Interciencia*, 31(8), 583–590.
- Quince, C., Walker, A. W., Simpson, J. T., Loman, N. J., & Segata, N. (2017). Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nature Biotechnology*, 35(9), 833–844. <https://doi.org/10.1038/nbt.3935>
- Ruvalcaba-Gómez, J. M., Delgado-Macuil, R. J., Zelaya-Molina, L. X., Maya-Lucas, O., Ruesga-Gutiérrez, E., Anaya-Esparza, L. M., Villagrán-de la Mora, Z., López-de la Mora, D. A., & Arteaga-Garibay, R. I. (2020). Bacterial Succession through the Artisanal Process and Seasonal Effects Defining Bacterial Communities of Raw-Milk Adobera Cheese Revealed by High Throughput DNA Sequencing. *Microorganisms*, 9(1), 24. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010024>
- Silva, L. F., Sunakozawa, T. N., Amaral, D. M. F., Casella, T., Nogueira, M. C. L., De Dea Lindner, J., Bottari, B., Gatti, M., & Penna, A. L. B. (2020). Safety and technological application of autochthonous *Streptococcus thermophilus* cultures in the buffalo Mozzarella cheese. *Food Microbiology*, 87, 103383. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103383>
- Suárez, N., Weckx, S., Minahk, C., Hebert, E. M., & Saavedra, L. (2020). Metagenomics-based approach for studying and selecting bioprotective strains from the bacterial community of artisanal cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 335, 108894. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108894>
- Terzic-Vidojevic, A., Mihajlovic, S., Uzelac, G., Veljovic, K., Tolinacki, M., Nikolic, M., Topisirovic, L., & Kojic, M. (2014). Characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Travnik young cheeses, sweet creams and sweet kajmaks over four seasons. *Food Microbiology*, 39, 27–38. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.10.011>
- Wadhawan, K., Steinberger, A. J., Rankin, S. A., Suen, G., & Czuprynski, C. J. (2021). Characterizing the microbiota of wooden boards used for cheese ripening. *JDS Communications*, 2(4), 171–176. <https://doi.org/10.3168/jdsc.2020-0014>