

CALIDAD MICROBIOLÓGICA, OPTIMIZACIÓN DE PRODUCCIÓN Y CONSERVACIÓN DE QUESILLO



INTRODUCCIÓN

El Quesillo es un queso de elaboración artesanal, característico de la región noroeste de la Argentina. La historia del producto se remonta a la actividad lechera que desarrollaron los lugareños originarios y los religiosos de la comunidad jesuita. Actualmente lo siguen elaborando pequeños productores siguiendo recetas culinarias tradicionales. En la provincia de Tucumán, son muy conocidos los quesillos que se elaboran en el departamento Trancas. Tiene amplia aceptación tanto en consumidores locales como turistas, constituyendo un importante aporte en los ingresos de los productores. Como un queso especial, fue incorporado al Código Alimentario Argentino (CAA), por lo que es un producto que requiere de un mayor control higiénico-sanitario, cumplimientos en la BPM, comercialización y venta hasta llegar al consumidor. El proceso de elaboración del quesillo consiste en una técnica muy laboriosa, realizado sólo por artesanos, en su mayoría mujeres, que han adquirido esta destreza de generación en generación. Involucra fenómenos físicos y químicos muy complejos. Se trata esencialmente de un proceso de concentración, a partir de la coagulación de la proteína mayoritaria de la leche (caseína) por la acción enzimática (cuajo) u otro coagulante de tipo ácido (Johnson M. y Law B., 2011).

La calidad de la leche cruda es el principal factor determinante de la calidad de los productos lácteos (FAO, 2012), y su composición varía considerablemente con la raza de la vaca, el estado de lactancia, alimento, época del año, entre otros factores (Galindo S. y Pérez Z., 2013).

Lorena Cruz, Dra Martha Nuñez¹, Dra Clara Silva²,
Bioquímica Norma Porcel²,

Dra María Cristina Gaudio de Allori²

¹CERELA-UNSTA. San Miguel de Tucumán, Tucumán,
Argentina.

²Cátedra de Bacteriología- FBQF-UNT.

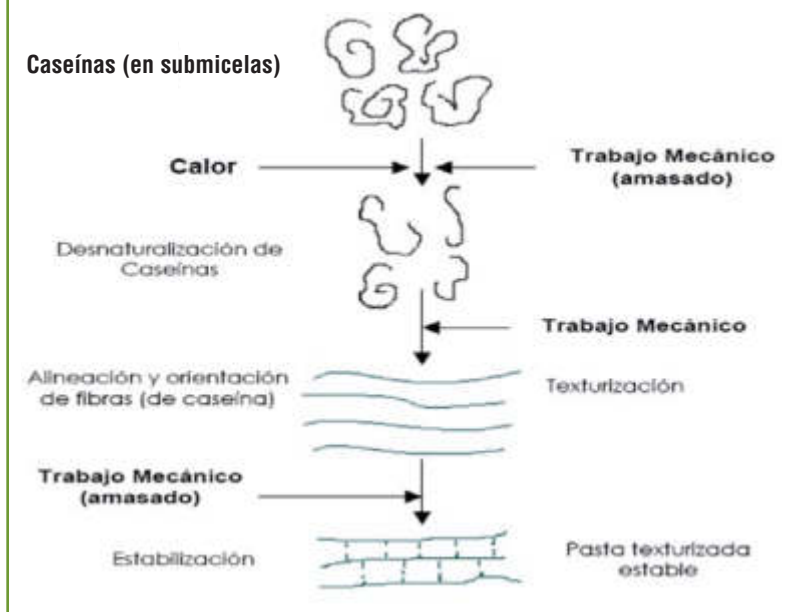
San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina.

marthanunez1408@gmail.com - crisalloriotmail.com

El quesillo se elabora con leche cruda, la cual se incuba naturalmente en un tiempo variable (4 a 10 hs), dependiendo de la temperatura ambiente, hasta lograr una acidificación de 21-28^oD y pH de 6,0-6,2. El tiempo de acidificación se puede acelerar agregando leche acidificada pH 6.0 (3:1), suero o fermentos lácticos específicos. Luego se agrega cuajo bovino a una temperatura de 37^oC para lograr la cuajada entre 30-45 minutos. Posteriormente, se hace el corte de la cuajada o lirado para separar la masa quesera del suero, en cuadros pequeños de 1 a 1,5 cm de lado, tratando de mantener la temperatura en 35^oC. El tamaño de los cubos de cuajada formados es de mucha importancia debido a que de ello depende el contenido final de humedad y dureza del queso. Se deja reposar y se aprecia que el grano empieza a soltar el suero. La cuajada desciende a la base de la tina quedando sumergida en suero, se desarrolla la fermentación bajo suero hasta obtener el punto óptimo de filancia de la masa, la cual va ensayándose con pequeños trozos calentándolos en agua caliente a 80-83^oC hasta conseguir la fundición de las proteínas que permiten un estiramiento y elasticidad propia del producto. Se agrega sal al agua caliente para proporcionar sabor al quesillo. Una vez hilada la cuajada se coloca en un mesón de acero inoxidable y se moldea con la finalidad de dar a la pasta la forma de lengua de 200 g. Se deja reposar hasta lograr su estabilización (Figura 1).

Durante el calentamiento de la masa se logra la reducción de potenciales patógenos, de allí la importancia de la temperatura del agua en el proceso de filancia o hilado. El envasado puede realizarse en bolsas de polietileno, papel film o al vacío y mantenido a una temperatura de 3 a 4^oC.

FIGURA 1 - Fases de texturización de la cuajada durante la elaboración de quesillo



Con el aval de numerosas investigaciones, se considera al estiramiento o filado realizado a temperaturas de 80-90 °C como método de reducción y/o inactivación de carga microbiana y de tratamiento para mejorar la calidad sanitaria de quesos. (Caserio *et al.*,1977; Eckner *et al.*, 1990; Villani *et al.*, 1996; Kim *et al.*, 1998; Silva *et al.*,1999; Spano *et al.*, 2003; Raimundo *et al.*, 2013). Al estandarizar este producto e incluirlo en el CAA, se jerarquiza y posiciona en el mercado, favoreciendo la cadena productiva desde el tambo hasta la venta del producto final.

El objetivo de esta investigación fue 1) evaluar la calidad microbiológica del quesillo que se elabora en Trancas (Provincia de Tucumán) en cada una de las etapas del proceso; 2) dar capacitación sobre Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) a sus elaboradores, corroborando las ventajas sobre aptitud del producto, posteriores a las mismas; 3) confirmar la efectividad del tratamiento térmico como control microbiológico durante el amasado en caliente (filado) usando *S. aureus* como indicador y 4) evaluar el tipo de envasado que preserva mejor el producto y la vida de estante.

El producto resultante “Quesillo” posee una textura compacta, firme y ligeramente elástica, de color blanco, blanco-amarillento o amarillento, de acuerdo a la raza bovina. Sus características sensoriales son sabor láctico poco desarrollado y suave, con olor característico y poco perceptible; no posee corteza ni ojos; normalmente se presenta en planchas de forma elongada (oval) y plana, pudiendo ser su peso variable (Cisint J. *et al.*, 2002).

Debido a que los consumidores buscan mayor información y calidad de los alimentos que adquieren, cobra mucha relevancia analizar su naturaleza, origen y los procesos tradicionales y artesanales de producción por los cuales adquieren sus características específicas. Para ajustar los estándares de calidad, la producción de un quesillo seguro debe estar sujeto a controles estrictos que protejan la salud del consumidor.

El objetivo de esta investigación fue 1) evaluar la calidad microbiológica del quesillo que se elabora en Trancas (Provincia de Tucumán) en cada una de las etapas del proceso; 2) dar capacitación sobre Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) a sus elaboradores, corroborando las ventajas sobre aptitud del producto, posteriores a las mismas; 3) confirmar la efectividad del tratamiento térmico como control microbiológico durante el amasado en caliente (filado) usando *S. aureus* como indicador y 4) evaluar el tipo de envasado que preserva mejor el producto y la vida de estante.

MATERIALES Y MÉTODOS

Toma de muestras previa a la implementación de BPM

Se recolectaron de diferentes productores del departamento Trancas un total de 31 muestras de quesillos, recién elaborados y refrigerados a 4°C; muestras de leche recién ordeñada y muestras de las etapas intermedias de elaboración (cuajada, amasado en caliente, estirado frío). Para los análisis microbiológicos de las

TABLA 1 - Criterios microbiológicos según CAA

Microorganismos	Criterios de aceptación	Categoría ICMSF	Métodos de Ensayo
Coliformes/ g (30°C)	n = 5 c = 2 m =1000 M = 5000	5	FIL 73A : 1985
Coliformes/ g (45°C)	n = 5 c = 2 m =100 M =500	5	APHA 1992, Cap. 24 (1)
Estafilococos coag. positiva/g	n = 5 c = 2 m =100 M = 1000	5	FIL 145 : 1990
<i>Salmonella spp</i> /25 g	n = 5 c = 0 m = 0	10	FIL 93A : 1985
<i>Listeria monocytogenes</i> /25g	n = 5 c = 0 m = 0	10	FIL 143 : 1990

FIGURA 2 - Control microbiológico de muestras de leche y etapas intermedias de elaboración de quesillos previo a la implementación de BPM

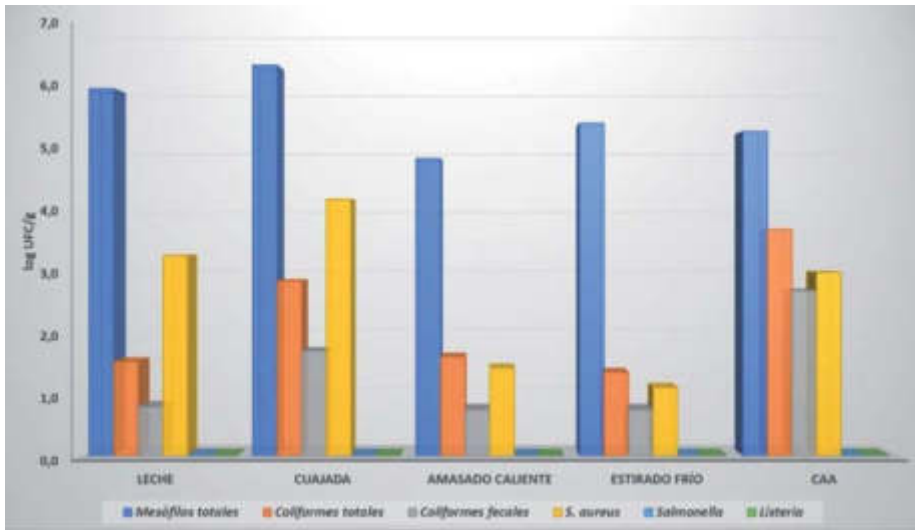
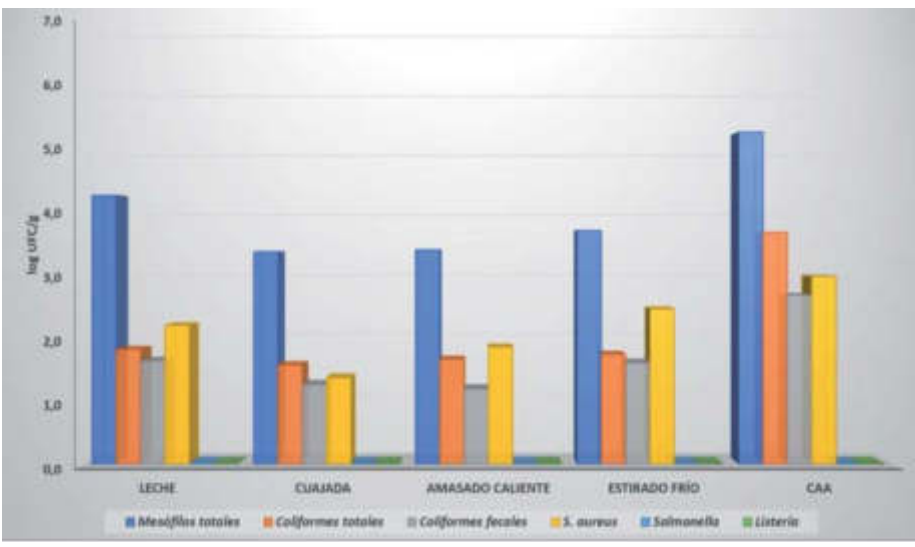


FIGURA 3 - Control microbiológico de muestras de leche y etapas intermedias de elaboración de quesillos posterior a la implementación de buenas prácticas de manufactura



muestras de quesillo se tuvo como referencia los parámetros establecidos por el CAA. Los microorganismos evaluados fueron coliformes totales y fecales, *Staphylococcus aureus*, detección de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp.

Capacitación en BPM e inocuidad de los alimentos

Se llevo a cabo una capacitación con respecto a higiene personal, uso de delantal, cofias y barbijos, higiene del área de procesamiento, uso de mesadas de acero inoxidable, desinfección de los utensilios, riesgos de contaminación cruzada, adecuada conservación de los productos lácteos, control de calidad de la leche, control sanitario del ganado, uso de un espacio exclusivo para la elaboración del producto. Luego de la capacitación se

recolectaron 38 muestras y se aplicaron los mismos controles microbiológicos descrito en el punto anterior para observar el resultado de las mejoras aplicadas durante las elaboraciones.

Efectos de la temperatura de hilado de la masa sobre la calidad microbiana del producto, usando como indicador *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

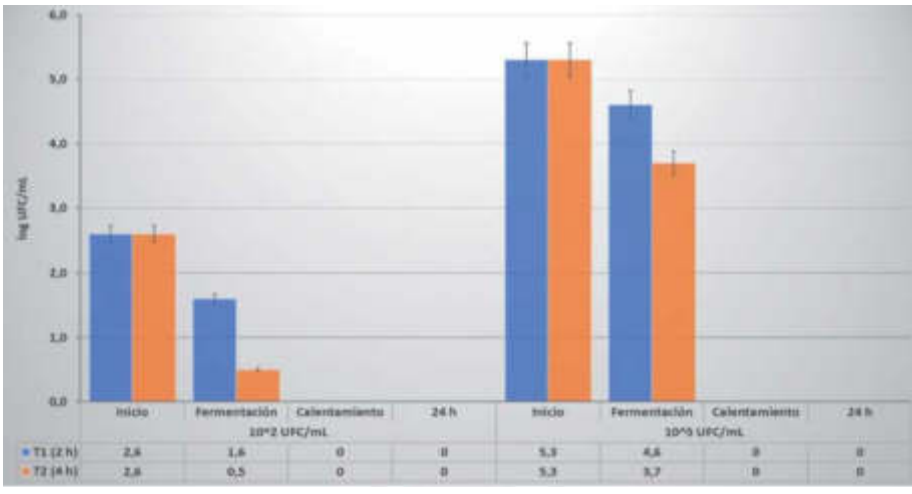
La leche cruda se inoculó con *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a concentraciones de 10^2 y de 10^5 UFC/ml (Tina 1 y Tina 2). En ambas muestras se adicionó fermento láctico (10^7 ufc/ml) (1%), cuajo (en cantidad suficiente para lograr la coagulación a los 40 min). Se realizó el lirado de la cuajada y se mantuvo una fermentación bajo suero a 35-37°C por 4h. Al cabo de éste tiempo se colocó la cuajada en agua con sal (salmuera saturada) a 80-85°C, durante tres minutos y se estiró la masa para obtener el quesillo en su forma característica. Para el control de supervida de *S. aureus* y de las Bacterias Acido Lácticas

(BAL) se utilizó el método de recuento de UFC/gr por diluciones sucesivas utilizando Baird-Parker Agar como medio de cultivo para *S. aureus* y MRS agar para BAL. Se tomaron muestras a las 2 y 4 h durante la fermentación y en el producto terminado a tiempo cero y 24 hs post elaboración.

Control microbiológico de vida útil según envase utilizado

Se llevó a cabo el control microbiológico según normativa del C.A.A. de los quesillos elaborados por productores según el envase utilizado: polietileno, papel film o envasado al vacío. Todos se conservaron a una temperatura de 3-4°C durante 15 y 30 días.

FIGURA 4 - Resultados de la evaluación del calentamiento de la masa como método de pasteurización del queso



Efectividad del tratamiento térmico durante el amasado en caliente (filado) usando *S. aureus* como indicador

En la tina inoculada con *S. aureus* a la concentración de 10² UFC/ml, los recuentos mostraron una disminución de 1 log a las 2 h y 2 log a las 4 h post-fermentación. En la Tina inoculada con *S. aureus* a la concentración de 10⁵ UFC/ml, los recuentos mostraron una disminución de 1 log a las 2 y 4 h post-fermentación. La acción del calor a 85°C durante tres minutos a la cual es sometida la cuajada para lograr la filancia produjo la eliminación del 100% de *S. aureus* (Figura 4), mientras que la viabilidad de las bacterias lácticas no se afectó por el calor. La fermentación bajo suero disminuye el desarrollo del patógeno por acción del ácido láctico, pero la acción del

calor elimina en un 100% a *S. aureus* considerándose a este tratamiento equivalente a un proceso de pasteurización que asegura la inocuidad del queso.

TABLA 2 - Porcentaje de muestras aptas pre y post capacitación en BPM

Criterios microbiológicos	Apto(%)	
	Previo BPM	Posterior BPM
Mesófilos totales (UFC/g)	29	74
Coliformes Totales (NMP/100 g)	100	100
Coliformes Fecales (NMP/100 g)	84	92
<i>S. aureus</i> (UFC/g)	52	84
<i>Salmonella</i> (UFC/25 g)	100	100
<i>Listeria monocytogenes</i> (UFC/25 g)	100	100

RESULTADOS

Control microbiológico de las muestras de quesillos que se realizaron antes y post capacitación en BPM

Las primeras 31 muestras de quesillos analizadas fueron consideradas no aptas para el consumo humano puesto que los recuentos fueron superiores de los establecidos por el CAA (Figura 2). Si bien en ninguna de las muestras se detectó *Salmonella* sp ni *Listeria monocytogenes* en 25 g, el 48% mostró valores superiores a los establecidos para *S. aureus* y el 16% de las muestras reveló valores más altos para coliformes fecales. En las 38 muestras de quesillos recolectadas posteriormente a la capacitación de BPM, los controles microbiológicos obtenidos mostraron mejor aptitud de los productos (Figura 3).

Los porcentajes de las muestras aptas previos y posteriores a la aplicación de las BPM se presentan en la tabla 2.

Vida útil del queso según tipo de envase utilizado

Para verificar la forma óptima de conservación se tuvo en cuenta el tipo de envases: bolsas de polietileno, papel film y envasado al vacío, que son los tres métodos que emplean los productores. Se realizaron controles microbiológicos de las muestras de quesillos recolectadas tanto antes como después de la capacitación sobre BPM. Luego de almacenamiento durante 15 días y 30 días se verificaron los resultados que se presentan en las figuras 5 y 6.

FIGURA 5 - Control microbiológico de quesillos conservados durante 15 días en heladera previa a la aplicación de las BPM

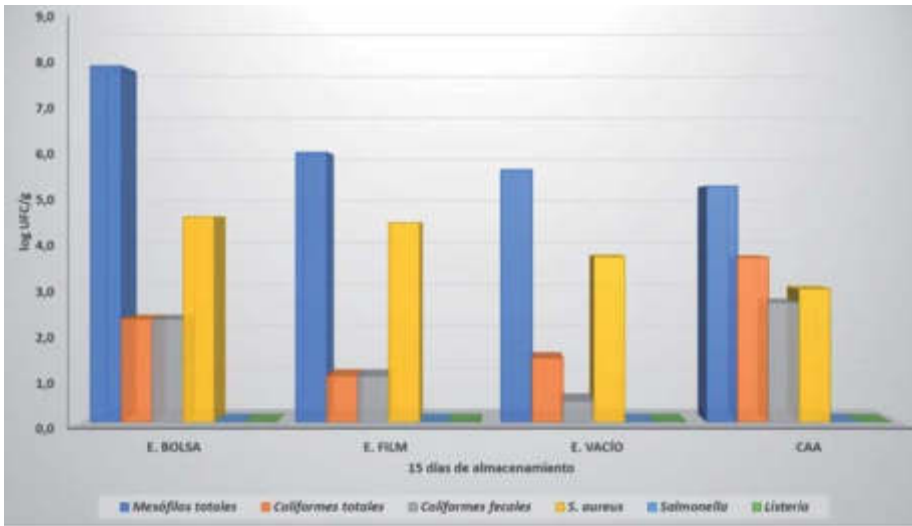
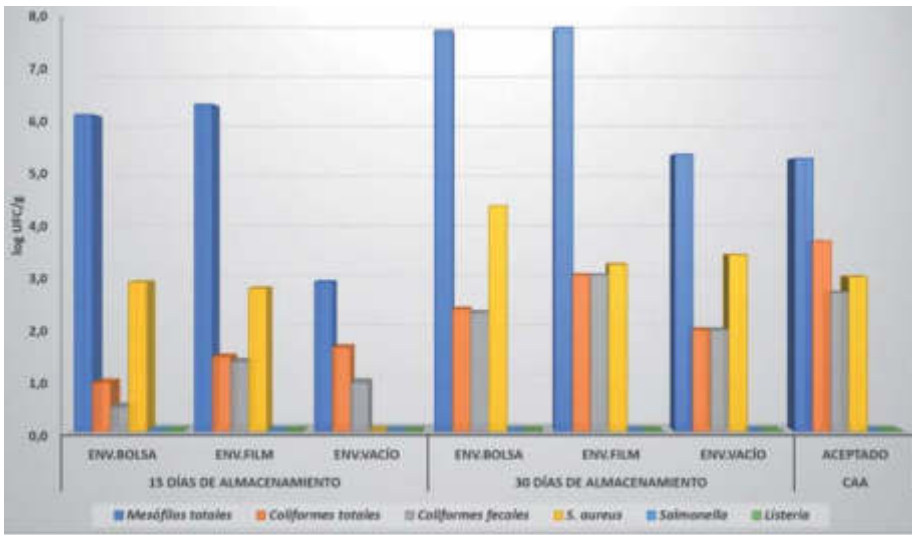


FIGURA 6 - Control microbiológico de quesillos conservados durante 15 y 30 días en heladera posterior a la aplicación de las BPM



DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los análisis microbiológicos de los alimentos son una herramienta eficaz para establecer la calidad higiénico-sanitaria de un producto y de su proceso de elaboración. La interpretación adecuada de los resultados de laboratorio debe conducir a establecer si el alimento es apto o no para su consumo, tomando en cuenta los criterios microbiológicos que determinan la norma sanitaria para el producto.

Díaz *et al.* (2013) en una investigación realizada en provincia de Trujillo (Perú) encontraron 3,3% de *L. monocytogenes* en 60 muestras analizadas de quesillo. Barancelli *et al.* (2011) reportaron quesos producidos en Brasil con un 3,4%. Moscalewski *et al.* (2008)

encontraron un 6,7% de *L. monocytogenes* en quesos elaborados en el mismo país. En este trabajo en el 100% de las muestras se registró ausencia de *Salmonella* spp. y de *L. monocytogenes*, coincidiendo con las exigencias del CAA.

Los estudios indican la necesidad de implementar medidas higiénicas y sanitarias estrictas para disminuir el riesgo que representa la presencia de estos patógenos para la salud en poblaciones de riesgo como lo son las embarazadas, adultos mayores, niños, y personas inmunosuprimidas cuando ingieren alimentos listos para el consumo, como es el quesillo (Lianou A. y Sofos J., 2007).

Raimundo *et al.* (2013) evaluaron la eficacia del filado en la reducción de patógenos, en comparación con la pasteurización de la leche, el cual es el método oficial para garantizar la aprobación de quesos seguros. La leche de búfala utilizada en el citado estudio fue contaminada con *Mycobacterium fortuitum*, *L. monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* y *S.*

aureus. Parte de esa leche fue empleada en la fabricación de la mozzarella y otra parte fue sometida a la pasteurización lenta. Después de estos procesos todos los patógenos fueron cuantificados (filado de la mozzarella y pasteurización de la leche) encontrándose que, en las condiciones de este estudio, el estiramiento de la masa de mozzarella fue más eficiente que la pasteurización de leche en la reducción de *L. monocytogenes*, *Mycobacterium fortuitum*, y *S. typhimurium*, pero menos eficaz en la eliminación de *S. aureus*.

Kennedy *et al.* (2005) determinaron que *Staphylococcus aureus* es más termotolerante que *Listeria monocytogenes* y otras bacterias presentes en alimentos, por ello puede utilizarse como microorganismo indicador en el diseño de tratamientos térmicos para alimentos.

En el control microbiológico de las muestras analizadas antes de la capacitación y aplicación de las BPM se pudo verificar que solo un 23% de las mismas cumplían con los requisitos microbiológicos permitidos por el CAA (las cuales fueron consideradas como aptas para el consumo humano).

La capacitación de los productores para la implementación de las BPM fue determinante para que sus productos sean inocuos. Por medio de la implementación de las BPM aumentó de 23 al 68% el porcentaje de los quesillos que cumplían con los parámetros establecidos por el CAA y fueron consideradas como seguros para el consumo.

Se determinó que el tiempo de vida de estante del quesillo estuvo en un rango comprendido entre 15-20 días en envasado al vacío, estableciendo que esta es la mejor forma de conservación.

Se pudo corroborar en el laboratorio que el calentamiento a 85°C durante tres minutos elimina totalmente la carga de *S. aureus* en concentraciones de 10² y 10⁵ UFC/ml. Se pudo evidenciar que los controles de fermento en el ensayo mostraron que este permanece viable pos-calentamiento.

Con los resultados obtenidos, se justifica que se puede trabajar con leche cruda ya que en la etapa del calentamiento de la masa se logra la "pasteurización".

BIBLIOGRAFÍA

Barancelli, G; Camargo, T; Reis, C; Porto, E; Hofer, E; Oliveira, C. (2011). Incidence of *Listeria monocytogenes* in cheese Manufacturing Plants from the Northeast Region of Sao Paulo, Brazil. *Revista J Food Prot.*, Vol. 74 (Número. 5), Pág. 9-816.

Caserio, G.; Senesi, E.; Forlani, M.; Emaldi, G. (1977) Condizioni igieniche delle Mozzarelle in rapporto alla tecnologia di produzione. *L'Industria del latte*, v.2, p.19-39,

Cisint, J C; Oliszewski, R; Vercellone, M; Núñez de Kairúz, M. (2002). Quesillo, queso artesanal del Noroeste Argentino: Fabricación tradicional con leche cruda vs leche pasteurizada. IX Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

Código Alimentario Argentino. Ministerio de Salud y Desarrollo Social/Salud/ANMAT. Capítulo VIII. Artículos: 553 al 642 - Alimentos Lácteos. Actualizado al 3/2019.

Díaz, M; Chávez, M; Saucedo E. (2013). *Listeria monocytogenes* in fresh milk and cheese as a vehicle for transmitting

human listeriosis in the Province of Trujillo, Peru. *Revista Cien. Tecnol.*, Vol. 9 (Número. 2), Pág. 23-38.

Eckner, K.F.; Roberts, R.F.; Strantz, A.A.; Zottola, E.A. (1990) Characterization and behavior of *Salmonella javiana* during manufacture of mozzarella type cheese. *J. Food Prot* v 53, p.461-464.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) y Federación Internacional de la Leche (FIL). 2012. Guía de buenas prácticas en explotaciones lecheras. Directrices FAO: Producción y Sanidad Animal No. 8, Roma.

Galindo, S W; Pérez, Z D. (2013). Estandarización y elaboración de queso crema con adición de los sólidos del lactosuero e inoculado con *Lactobacillus*.

Johnson, M; Law, B A. (2011). *The fundamentals of cheese Technology* (2da ed.). Reino Unido: Editorial Wiley Blackwell.

Kennedy, J; Blair, I; McDowell, D; Bolton, D. (2005). An investigation of the thermal inactivation of *Staphylococcus aureus* and the potential for increased thermotolerance as a result of chilled storage. *Journal of applied Microbiology*, Vol. 99 (Número. 5), Pág. 35-1229.

Kim, J.; Schmidt, K. A.; Phebus, R.; Jeon, I.J. 1998. Time and temperature of stretching as critical control points for *Listeria monocytogenes* during production of mozzarella cheese. *J. Food Prot.*, v.61, p.116-118, 1998.

Lianou, A; Sofos, J. (2007). A Review of incidence and Transmission of *Listeria monocytogenes* in ready-to-Eat Products in Retail and Food Service Environments. *Revista J Food Prot.*, Vol. 70 (Número. 9), Pág. 2172-2198.

Moscalewski, W; Da Silva, P; Bastos, C; Pontarolo, R. (2008). Occurrence of *Listeria monocytogenes* in cheese and ice cream product in the State of Parana, Brazil. *Revista J Phar Sc.*, Vol. 44 (Número. 2), Pág. 95-289.

Oliszewski, R; Cisint, J C; Vercellone, M T; Núñez de Kairúz, M S;. (2003). Caracterización y Estudio de Inocuidad del Quesillo, Queso Regional del Noroeste Argentino.

Raimundo, R; Travaglini, G; Souza, K; Starikoff, S; Sanches, O; Souza, S; Balian, E. (2013). Methods for thermal inactivation of pathogens in mozzarella a comparison between stretching and pasteurization. *Revista Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, Vol. 65 (Número. 2), Pág. 582-588.

Silva, E.O.T.R.; Panetta, J.C.; Ishizuka, M.M. 1999 Efeito microbiocida da fase de filagem durante a fabricação de "mozzarella" elaborada com leite cru de búfala. *Rev. Hig. Aliment.*, v.13, p.28-34, 1999.

Spano, G.; Goffredo, E.; Beneduce, L. et al (2003). Fate of *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture of mozzarella cheese. *Lett. Appl. Microbiol.*, v.36, p.73-76.

Villani, F.; Pepe, o.; Mauriello, G.; Moschetti, G. et al (1996); Behavior of *Listeria monocytogenes* during the traditional manufacturing of water buffalo Mozzarella cheese. *Lett. Appl. Microbiol.*, v.22, p.357-360, 1996.

Revistas online

www.publitec.com