



UNIVERSIDAD DEL MAR

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

TIPIFICACIÓN DEL QUESO “PRENSA” MADURADO
ARTESANAL DE TATALTEPEC DE VALDÉS, OAXACA

TESIS

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN Y SANIDAD ANIMAL

PRESENTA

L. Z. SARIS ULISES RAMOS GABRIEL

DIRECTOR

DR. JOSÉ GUADALUPE GAMBOA ALVARADO

CO-DIRECTOR

DRA. MÓNICA MARCELA GALICIA JÍMENEZ

PUERTO ESCONDIDO, OAXACA, MÉXICO.

2020

DEDICATORIA

A la excelsitud de un poder superior por permitirme ser arquitecto de mi propio porvenir.

A mi madre Isala Gabriel por educarme bajo principios morales, éticos y espirituales.

A mi padre Ignacio Ramos por ser ejemplo de humildad, honestidad y paciencia. Por manifestar sabiduría para ser cabeza de familia y enseñarnos a ser hacedores de excelencia.

A mi hermano Hugo Ramos Gabriel por el apoyo, empatía y motivación constante.

“Hay muchos árboles no todos dan frutos, hay muchos frutos no todos se pueden comer, muchos también son las clases de conocimiento, pero no todos tienen valor para los hombres”.

Julián García-Reyes

AGRADECIMIENTO

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada. De igual modo un reconocimiento a la Universidad del Mar y a Quesos Don Conrado® de Araceli Díaz Robles por el apoyo durante la vinculación.

A Dios por permitir que las personas que a continuación menciono fueran compañía y aliento durante mi formación académica:

Al Dr. José Guadalupe Gamboa Alvarado por su confianza y apoyo durante toda la vinculación de este proyecto. Por tus consejos, sabiduría y dedicación, comprendiendo que tener la idea es bueno, pero más lo es. la acción.

A la Dra. Mónica Marcela Galicia Jiménez por su consejos, formalidad y apoyo en todo momento durante la tesis. Gracias por fomentar mi superación personal.

Al Dr. Narciso Ysac Ávila Serrano por su paciencia, enseñanza y visionario estadístico de este trabajo.

A mi consejera Adriana León por estar al pendiente de mi bienestar, pero sobre todo ejemplo de humildad y humanidad.

Al P. L. Z. Ricardo Vázquez, P. I. F. Yesenia, L. B. Karina Madrid, M.C. Fernanda Rodríguez, por apoyarme en la realización del experimento y trabajo. Aunado un reconocimiento a los jóvenes del programa DELFÍN: Enrique Gonzales Escalera, María Guadalupe Oliveros Mora, Ricardo González Lara, Rodrigo Barajas Aguilar, Valeria Grimaldo Andrade por su apoyo en la caracterización de la microbiota del queso. Sin su esmero este trabajo no hubiese sido posible.

Un agradecimiento especial al M. C. Carlos Alberto Castañón Sánchez del Hospital Regional de Alta Especialidad de Oaxaca por la facilitación de la cepa *Staphylococcus aureus subsp. aureus* (ATCC® 43300™).

A los profesores Dr. Edgar Iván Sánchez Bernal, Dr. Marco Antonio Camacho Escobar y Dr. Jaime Arroyo Ledezma por sus enseñanzas y consejos a lo largo del aprendizaje académico.

Si he visto más lejos es porque estoy sentado sobre los hombros de gigantes

Isaac Newton

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue tipificar el queso prensa producido en Tataltepec de Valdés, Oaxaca a una, tres, seis y doce semanas de maduración durante el periodo de lluvias y secas. Los quesos fueron evaluados fisicoquímica (pH, color: L*, a*, b*, C*, h°), bromatológica (MS, H, C, ELN, P, G, EE/ES, Cal, KJ), microbiológica (Bacterias: abundancia y diversidad, *Staphylococcus aureus*: presencia y ausencia) y sensorialmente (pruebas cualitativas). Los valores de pH caracterizaron al queso como un producto ácido de 5.3 a 5.9 pH con tendencia a tonalidades oscuras de color amarillo conforme se desarrolla la maduración. La valoración nutricional determinó que los quesos de lluvias sobre sus homólogos en secas son productos calóricos ricos en proteínas, grasa y cenizas. La riqueza y diversidad bacteriana encontrada permitió preservar el producto hasta por 12 semanas por lo que influye sobre la composición fisicoquímica, bromatológica y sensorial. La presencia de *Staphylococcus aureus* durante la maduración es cambiante por el factor lluvias y secas. La presencia de microbiota promueve la maduración, puede otorgar atributos de preferencia al consumidor local, el cual, tuvo afinidad por quesos a una y tres semanas de reposo. Los resultados obtenidos permiten conocer las propiedades cuantitativas y descriptivas del queso prensa, siendo soporte científico-tecnológico para gestionar una denominación de origen o marca colectiva por parte de los productores.

Palabras claves: queso, maduración, análisis fisicoquímico, determinación bromatológica, análisis microbiológico, estudio de consumidores.

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to typify the press cheese produced in Tataltepec de Valdés, Oaxaca at one, three, six and twelve weeks of maturation during the rainy and dry period. The cheeses were evaluated physicochemical (pH, color: L *, a *, b *, C *, h °), bromatological (MS, H, C, ELN, P, G, EE / ES, Cal, KJ), microbiological (Bacteria: abundance and diversity, *Staphylococcus aureus*: presence and absence) and sensorially (qualitative tests). The pH values characterized the cheese as an acid product from 5.3 to 5.9 pH with a tendency to dark yellow shades as maturation develops. The nutritional assessment determined that the rain cheeses on their dry counterparts are caloric products rich in protein, fat and ash. The bacterial richness and diversity found allowed the product to be preserved for up to 12 weeks, influencing the physicochemical, bromatological and sensory composition. The presence of *Staphylococcus aureus* during maturation is changeable due to the rain and dry factor. The presence of microbiota promotes maturation, and can give attributes of preference to the local consumer, who had an affinity for cheeses at one and three weeks of rest. The obtained results allow knowing the quantitative and descriptive properties of the press cheese, being scientific-technological support to manage a designation of origin or collective brand by the producers.

Key words: cheese, ripening, physicochemical analysis, bromatological determination, microbiological analysis, consumer study.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	1
1. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
1.1. Relevancia de la leche.....	4
1.2. La leche base de la producción quesera.....	4
1.3. Tecnología quesera.....	5
1.4. Tecnología de la transformación.....	7
1.5. Historia de los quesos artesanales.....	9
1.6. Los quesos mexicanos.....	11
1.7. Importancia sociocultural de los quesos artesanales.....	11
1.8. Quesos genuinos artesanales.....	13
1.9. Valorización de acuerdo a la región o al país de origen.....	13
1.9.1. Problemática de los quesos mexicanos genuinos.....	14
1.10. Definición de queso.....	15
1.11. Composición del queso.....	16
1.11.1. Agua.....	16
1.11.2. Lactosa.....	16
1.11.3. Caseína.....	17
1.11.4. Materia grasa.....	17
1.11.5. Vitaminas.....	18
1.11.6. Elementos minerales.....	19
1.12. Microbiología de la leche para quesería.....	19
1.13. Metabolismo de la microbiota del queso.....	21
1.14. Actividad bioquímica del queso.....	23
1.14.1. Proteólisis.....	23
1.14.2. Lipólisis.....	23
1.14.3. Glicólisis.....	24
1.15. Factores que determinan la calidad del queso.....	25
2. JUSTIFICACIÓN.....	26
3. HIPÓTESIS.....	27
4. OBJETIVOS.....	27
4.1. Objetivos generales.....	27

4.2. Objetivos específicos.....	27
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
5.1. Área de estudio.....	28
5.2. Proceso de elaboración.....	29
5.3. Diseño de experimental.....	29
5.4 Evaluación fisicoquímica.....	30
5.4.1. pH.....	30
5.4.2. Color.....	30
5.5. Evaluación bromatológica.....	31
5.6. Análisis microbiológico.....	31
5.6.1. Extracción de ADN.....	32
5.6.2. Perfil de poblaciones microbianas (DGGE).....	33
5.6.3. Cálculos de índice de abundancia y diversidad.....	34
5.6.4. Evaluación de la presencia de <i>Staphylococcus aureus</i>	34
5.7. Evaluación sensorial.....	36
5.7.1. Preparación de las muestras para análisis sensoriales.....	36
5.7.2. Métodos afectivos.....	36
5.7.2.1 Estudio de consumidores.....	36
5.7.2.2. Pruebas de preferencia, aceptación y actitud de consumo.....	36
5.8. Análisis estadístico.....	37
6. RESULTADOS Y DISCUSION.....	38
6.1. Evaluación fisicoquímica.....	38
6.1.1. pH.....	38
6.1.2. Color.....	40
6.2. Determinación bromatológica.....	46
6.3. Análisis microbiológico.....	54
6.3.1. Electroforesis del DNA extraído	54
6.3.2. Perfil de poblaciones microbianas mediante DGGE.....	55
6.3.3. Evaluación de la presencia de <i>Staphylococcus aureus</i>	64
6.4. Evaluación sensorial.....	67
6.4.1. Estudio de consumidores.....	67
6.4.1.1. Preferencia, aceptación y actitud de compra.....	67

6.4.2. Análisis de consumidor.....	69
7. CONCLUSIÓN.....	71
8. RECOMENDACIONES GENERALES.....	72
9. LITERATURA CITADA.....	73
10. ANEXOS.....	100
10.1. Análisis microbiológico en quesos.....	100
10.1.1. Electroforesis del ADN extraído.....	101
10.1.2. Análisis bacteriológico de cuajada y leche.....	102
10.2. Trabajos generados.....	103

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I.	Tabla comparativa de la transformación artesanal e industria.....	8
Tabla II.	Principales géneros de bacterias encontrados frecuentemente u ocasionalmente en quesos durante la maduración.....	21
Tabla III.	Características fenotípicas y genotípicas de las cepas control.....	34
Tabla IV.	Efecto de tiempo de maduración en potencial de hidrogeno.....	39
Tabla V.	Efecto de tiempo de maduración en el color.....	45
Tabla VI.	Efecto de tiempo de maduración sobre la composición bromatológica del queso prensa.....	53
Tabla VII.	Datos de índices ecológicos para la comunidad bacteriana.....	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Formación de compuestos lácteos.....	4
Figura 2.	Tecnología disruptiva del proceso quesero.....	6
Figura 3.	Rutas metabólicas primarias del queso durante la maduración.....	22
Figura 4.	Ilustración de la posición de los primers universales utilizados..	34
Figura 4.	Rallado de muestras y extracción de gel de agarosa.....	54
Figura 5.	ADN extraído en el transiluminador.....	54
Figura 6.	Perfil DGGE de amplicones de la región V3 del gen ARNr 16s..	55
Figura 7.	Dendrograma construido mediante el método del vecino más cercano.....	57
Figura 8.	Gráfico de frecuencias que indica presencia o ausencia bacteriana.....	58
Figura 9.	Análisis de correspondencia múltiple para presencia o ausencia de bacterias.....	62
Figura 10.	Productos PCR de los quesos artesanales.....	64
Figura 11.	Caracterización genotípica de aislados de <i>S. aureus</i>	65
Figura 12.	Gráfico comparativo de pruebas cualitativas para consumidores...	68
Figura 13.	Gráfico radial de la media por atributos por tiempo de maduración	70

INTRODUCCIÓN

En el sector primario mexicano, la producción pecuaria es una de las principales actividades económicas, después de la agrícola, ya que representó en 2017, el 2.3% del PIB (SE 2012, INEGI 2018). Dentro de las actividades pecuarias sobresale la producción de leche bovina, por ser una de las principales actividades económicas del país (INEGI 2014), misma que se desarrolla bajo 4 diferentes sistemas de producción (SP): especializado, semi-especializado, familiar y de doble propósito (Ríos-Flores *et al.* 2015, Ríos-Flores *et al.* 2016).

En el trópico mexicano, el sistema doble propósito (DP) aporta más del 18% de la producción nacional de leche. La mayor parte de las unidades de producción bajo este sistema se caracterizan por su heterogeneidad a nivel estructural, tecnológico y de manejo, lo que provoca variabilidad en las características de la leche (Juárez-Barrientos *et al.* 2016).

La heterogeneidad en la mayoría de las unidades de producción lechera, deriva de procesos variables y deficientes en la elaboración de quesos, en aspectos como: buenas prácticas de manejo e inocuidad, proceso de fabricación no tecnificado, poca o nula verificación de la calidad de la materia prima (leche), transporte inadecuado de la leche así como carencias en los márgenes de comercialización (PROFECO 2000, Espinosa *et al.* 2008, Rebollar-Rebollar *et al.* 2011, SE 2012) y protección jurídica bajo un marco de propiedad industrial (IMPI 2018, OMPI 2018).

Estas deficiencias, en parte son generadas por productores con escasos conocimientos prácticos y/o técnicos en la producción de diversos tipos de quesos con inocuidad y mayor calidad, ventajas que les permitan el acceso a nichos del mercado que les generen mayores beneficios o utilidades (Juárez-Barrientos *et al.* 2016, Villegas *et al.* 2016).

En el país existen diversas variedades de quesos, de estos, 25 a 30 son considerados genuinos o propios del país, entre los que destacan por su volumen producido: Oaxaca, tipo Manchego, Panela y Cotija (Villegas *et al.* 2014). Estas variedades se producen bajo métodos modernos o artesanales (Villegas *et al.*

2014). La producción artesanal de quesos (*i.e.* Manchego y Cotija) se caracteriza por la ausencia de pasteurización que le confieren, al producto final cualidades únicas durante la fase de maduración (Villegas *et al.* 2016).

En el país la mayoría de los quesos madurados son producidos mediante el método artesanal (Villegas *et al.* 2016). De ellos solo cinco: Queso Cotija (Michoacán) (Hernández-Briones *et al.* 2009, Torres-Villa & Barragán-López 2016), Queso Bola (Chiapas) (López *et al.* 2015), Queso Crema (Chiapas) (Rosado-Zarrabal *et al.* 2013, Culebro-Pérez *et al.* 2014), Queso Tepaltepec (Michoacán) (Solís-Méndez *et al.* 2013, Cervantes-Escoto *et al.* 2017) y Queso de Poro (Tabasco) (Díaz-Ramírez *et al.* 2016, Cervantes-Escoto *et al.* 2017) están protegidos por una Marca Colectiva (Villegas *et al.* 2015, Cervantes-Escoto *et al.* 2017).

Dos estados sobresalen como productores de quesos nativos a nivel nacional dentro de los que se destaca el estado de Oaxaca seguido de Chiapas (Villegas 2009, Villegas *et al.* 2016). La producción láctea en Oaxaca es de gran importancia económica debido al origen de quesos reconocidos internacionalmente por sus propiedades gourmet (Domínguez-López *et al.* 2011, Díaz-Ramírez *et al.* 2016).

El municipio de Reyes ETLA que pertenece a la región de los Valles Centrales, es cuna del Queso Oaxaca también llamado queso de hebra, quesillo o de pasta hilada (Lodoño 2006, Ramírez-Nolla & Vélez-Ruiz 2012, Díaz-Ramírez *et al.* 2016). Actualmente es el queso más producido en el estado y comercializado en el país (Hernández-Briones *et al.* 2009).

En el estado y en la región de la costa, se elaboran tres tipos de quesos artesanales en mayor proporción, el queso fresco, la cuajada y el queso de prensa. El tercero y motivo de esta investigación es elaborado con leche bronca, cuajo de bovino, se prensa dentro de moldes de madera principalmente Macuil (*Tabebuia rosea*) durante veinticuatro horas, usando sogas de palma para su apretado y prensas artesanales de madera local, con cantidades hasta del 7% de sal, con características de grano de tamaño grande y se deja en maduración hasta por 90 días (Gamboa-Alvarado 2011).

Los tres quesos utilizan materia prima fresca sin pasteurizar, lo que da lugar a diversas bacterias ácido lácticas que permiten una maduración prolongada dando cabida a atributos aceptables para el consumidor local que le otorgan un producto final con larga vida de anaquel (Castro-Castillo *et al.* 2013, Villegas *et al.* 2014, Ramírez-López & Vélez-Ruiz 2016).

De igual modo, son los más destacados y producidos en la región; empero, el queso prensa es el único que presenta larga vida en anaquel, elaborado por los productores por su continua demanda, preferido por el consumidor, como un queso blando de una semana de maduración o un queso semiduro de 3, 6 o hasta 12 semanas de reposo (Gamboa-Alvarado 2011, Villegas *et al.* 2014).

La protección a los pequeños y medianos productores de quesos artesanales mediante una denominación de origen o marca colectiva permitirá que estos sigan produciéndose en la región Costa, generando oportunidades de empleo y crecimiento a partir del acceso del producto a nuevos mercados tanto regionales como nacionales (Gómez-Alvarado *et al.* 2010, Rosado-Zarrabal *et al.* 2013, Díaz-Ramírez *et al.* 2016, Duran 2016, Cervantes-Escoto *et al.* 2017).

Para una productora es de suma importancia proteger el producto lácteo generado, por lo que la presente investigación pretende conocer las propiedades cuantitativas y descriptivas del queso a través de una tipificación (Oliveira *et al.* 2012, Solís-Méndez *et al.* 2013, Culebro-Pérez *et al.* 2014, López *et al.* 2015, Ramírez-López & Vélez-Ruiz 2016, Gámbaro *et al.* 2017).

Los objetivos de este trabajo ayudaron a tipificar las características del queso prensa artesanal madurado de Tataltepec de Valdés, Oaxaca, lo que permitirá conocer sus aspectos fisicoquímicos, bromatológicos, microbiológicos y sensoriales que sirvan de soporte para gestionar una denominación de origen o marca colectiva por parte de los productores (Hernández-Briones *et al.* 2009, Villegas *et al.* 2016, Cervantes-Escoto *et al.* 2017).

1. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. Relevancia de la leche

En México se producen más de 11.8 billones de litros de leche bovina (SIAP 2018), de la cual más del 20% se utiliza para la elaboración de leche entera pasteurizada y ultra pasteurizada (Juárez-Barrientos *et al.* 2015).

La leche y sus derivados son denominados productos lácteos importantes para la alimentación humana (ONU & OMS 2011). La leche por definición es referida a la secreción natural de las glándulas mamarias de las vacas sanas o de cualquier otra especie animal, excluido el calostro (SSA 2010). Esta secreción es de las pocas sustancias producidas por naturaleza que tienen como fin, la función alimenticia siendo fuente principal de nutrientes en la dieta diaria a través del consumo directo o de subproductos (Ribadeau-Dumas & Grappin 1989). La importancia se debe a los componentes de proteína, lípidos, vitaminas y elementos minerales (OMS & ONU 2011) que son base para la producción quesera (Chamorro & Losada 2002, Santos 2007).

1.2. La leche base de la producción quesera

Segregada por los acinos glandulares de la glándula mamaria, se encuentran las células encargadas de la biosíntesis de los distintos componentes de la leche (Klein 2014).

La leche es la sustancia segregada por la glándula (ubre) mamaria de mamíferos hembra después del nacimiento de sus crías (Glauber 2007, Klein 2014), siendo el ser humano responsable de la extracción, manejo y transformación en productos de larga duración como es el queso (Villegas 2012).

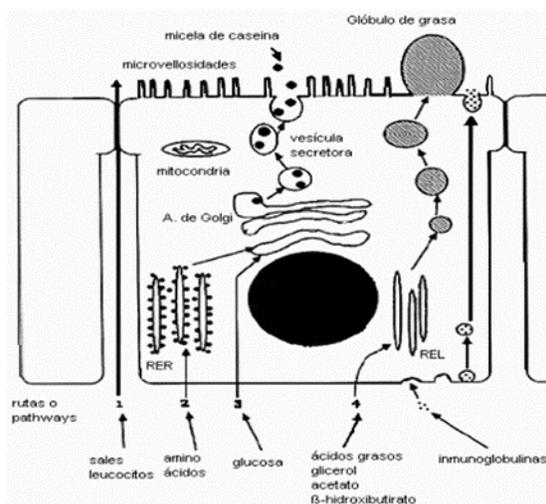


Figura 1. Formación de compuestos lácteos. Tomado de Hurley (2010)

1.3. Tecnología quesera

Actualmente, la fabricación quesera industrial es una de las manufacturas con mayor capacidad productiva, utiliza aproximadamente del 25 al 35% de la leche producida para la elaboración de quesos industriales; del 35 al 45% de leche para la elaboración de quesos artesanales mexicanos bajo esquemas tradicionales de elaboración (González-Cordova *et al.* 2016).

Desde el punto de vista tecnológico la composición de la leche determina su calidad nutritiva, inocuidad y su valor como materia prima para fabricar productos alimenticios (Villegas 2009, Villegas *et al.* 2015, Villegas *et al.* 2014). El principal producto de la transformación láctea es el queso que es uno de los alimentos de mayor valor nutricional. Miloradovic *et al.* (2017) menciona que la leche es un alimento altamente perecedero, que exige una cuidadosa manipulación durante su recepción, procesamiento y su posterior maduración en forma de queso.

Un producto madurado es un medio ideal para el crecimiento de microorganismos beneficios que influyen en la maduración (Sánchez-Ponte 2003, Santos 2007, Teubner *et al.* 2009, Etchevers *et al.* 2010) y en las características sensoriales aceptables al consumidor (Valencia *et al.* 2007). La leche puede seguir transformándose en productos lácteos; el producto con mayor demanda, difusión y diversificación son los quesos, debido a su comercialización y continua demanda (OCDE & FAO 2017a).

La transformación de la leche en quesos madurados ha servido a los productores hacer frente a las fluctuaciones estacionales de la oferta y la demanda láctea (Gómez-Alvarado *et al.* 2010, López-Guzmán *et al.* 2012, Faye & Konuspayeva 2012, Juárez-Barrientos *et al.* 2016). Debido a que estos tienen un periodo mayor de maduración, ya que una larga vida de anaquel permite incrementar su valor en el mercado (Panizzolo *et al.* 2011, Akkerman *et al.* 2017).

El procesar un queso, madurarlo, cortarlo y empacarlo, permite elevar su valor en el mercado (Miloradovic *et al.* 2017), prolongar su tiempo de almacén, así como otorgar un valor agregado al producto final, por lo cual, la maduración puede

aumentar las propiedades nutricionales y de preferencia de los consumidores (Villegas 2009).

La cantidad de quesos que ofrecen los pequeños a medianos productores y debido al tipo de infraestructura (Gómez-Alvarado *et al.* 2010, Rosado-Zarrabal *et al.* 2013, Duran 2016, López-Aquino & Méndez-Altamirano 2016), pueden llegar a considerarse alimentos tradicionales (Villegas 2009, Villegas *et al.* 2014); ya que no pueden competir con los productores industriales debido a que estos carecen del esmero y la herencia de los conocimientos con lo que se elaboran los quesos artesanales (Chamorro & Losada 2002, López-Gómez & Madrid-Vicente. 2003, Teubner *et al.* 2009, Villegas *et al.* 2015).

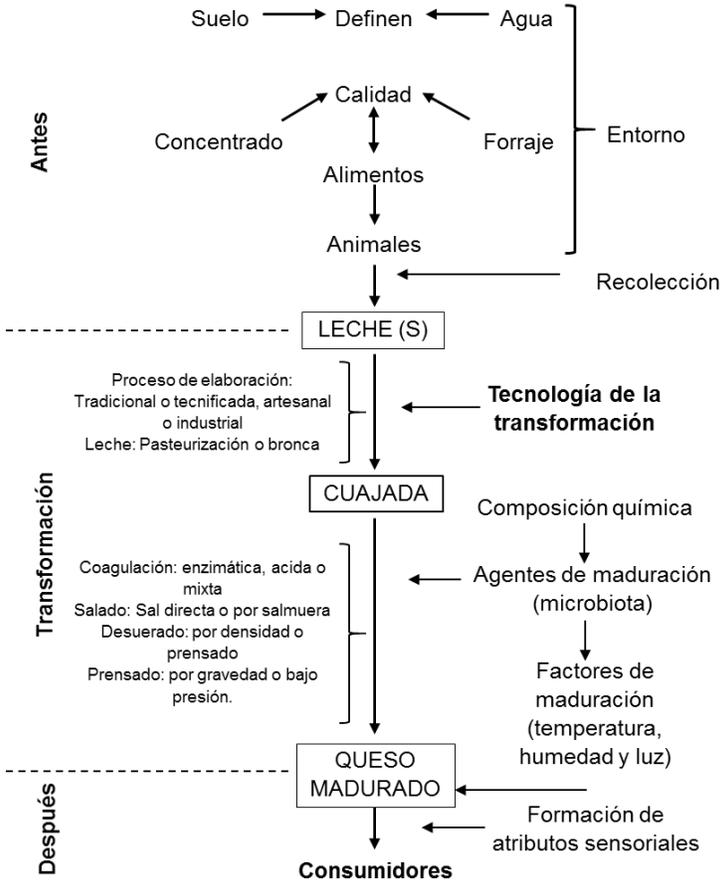


Figura 2. Tecnología disruptiva del proceso quesero. Fuente propia.

1.4. Tecnología de la transformación

La transformación de la leche en queso es dividida en cuatro etapas: 1) La *coagulación* consiste en modificaciones fisicoquímicas de las micelas de caseína, que bajo acción de enzimas proteolíticas o de ácido láctico forman un entramado proteico denominado coagulo o gel separándolo del resto que representa al suero; 2) El *desuerado* es la separación del lactosuero tras la formación del coagulo y la ruptura de este a través del moldeado, centrifugado y prensado obteniéndose finalmente la cuajada; 3) El *salado* es aplicado en la masa denominada cuajada a la que se le es incorporada la sal sea esta granulada sobre la superficie o mezclada en la masa o por inmersión en salmuera; 4) La maduración es el conjunto de transformaciones bioquímicas, bromatológicas y sensoriales que sufre la cuajada por acción microbiológica enzimática (Chamorro & Lozada 2002, Teubner *et al.* 2009, Villegas 2012).

La gran variedad de parámetros tecnológicos puede ser observados en la Figura 2 y Tabla I, que da origen a infinidad de quesos con diferentes características de interés.

Tabla I. Tabla comparativa de la transformación artesanal e industrial.

Artesanales	Proceso	Industriales
Manual		Ordeñadoras
Recolección en picheles metálicos y/o plástico	Ordeño	Almacenamiento: tanques de enfriamiento
Filtración, Almacenamiento en tinajas de acero a temperatura ambiente	Recepción	Filtración, eliminación de gases, enfriamiento y almacenamiento a 4 °C
Verificación de parámetro: pH	Homogenización	Verificación de parámetros: color, composición bromatológica (Proteína cruda, Sólidos totales, grasa), pH, extracto seco
Desconocido o poco usado	Tratamiento térmico	Pasteurización: lenta 63 °C x 30 min, rápida 72 °C x 15 seg seguida de una rápida bajada de la temperatura a 35 °C
Enfriamiento o calentamiento a temperatura de inoculación o cuajado	Premaduración	Enfriamiento o calentamiento a temperatura de inoculación o cuajado
Desconocido o poco usado	Adición de sales y otros aditivos	Adición de CaCO ₃ , Cl ₂ Ca u otros colorantes, lisozima (elimina el crecimiento de <i>Clostridium spp.</i> , lipasas
Enzimática o acida	Coagulación	<i>Enzimática</i> "quimosina", <i>Acida</i> producto de microorganismos (pH 4.6), <i>Mixta</i> (presencia de enzimas proteolíticas y acidez)
Rompimiento por medio de agitación y elevación de temperatura; prensado y moldeado	Desuerado	Utilización de liras, sinéresis por gravedad, prensado y moldeado
Sobre la cuajada en forma de sal marina o en salmuera	Salado	En la cuajada en forma de sal marina o en salmuera
Sobre repisas de madera a temperatura ambiente desde días hasta meses	Maduración	Cámaras de maduración a temperatura, humedad y luminosidad controlada, desde días hasta semanas
En bolsas o empaques económicos en refrigeración a 6 °C	Conservación y comercialización	En bolsas o empaques sellados al vacío bajo refrigeración menor a 6 °C

Fuente propia.

1.5. Historia de los quesos artesanales

El descubrimiento accidental hace miles de años y la capacidad humana de transformar la leche en productos lácteos (leches fermentadas y quesos) (Villegas *et al.* 2016, permitió una diversificación en la dieta de productos lácteos, estableció las bases de la conservación de los alimentos (quesos madurados) y procesos fermentativos con microbiota nativa de la leche (Fernández *et al.* 2004).

El primer registro de un queso elaborado fue en el sudoeste de Asia, hace unos 6,000 a 2,000 A. de C. (Amiot 1991, De-Renobales *et al.* 2008). Los romanos en sus conquistas a través del imperio fueron mejorando la técnica y estimularon el desarrollo de nuevas variedades de quesos (Teubner *et al.* 2009), cuya maduración se realizó en climas templados, así nació el cheddar en el año 1500, parmesano en 1597, el gouda en 1697 y el camembert en 1791. Esto se debió gracias a los monjes medievales que perfeccionaron los métodos de producción, llevando su conocimiento a diversas partes del mundo donde evangelizaban (Villegas *et al.* 2014).

Así es como las órdenes religiosas llegaron a la Nueva España trayendo consigo productos lácteos desconocidos en la región mesoamericana (Kosikowski 1985); el más destacado: “el queso” (Hernández-Briones *et al.* 2009, Cervantes-Escoto *et al.* 2013). Los españoles trajeron con ellos ganado lechero como vacas, ovejas y cabras (Villegas *et al.* 2014, Villegas *et al.* 2015, Lozano-Moreno & Villegas 2016).

Durante el periodo colonial, la elaboración y técnicas fueron modificadas según los climas de las diferentes regiones, ajustada a los gustos entre españoles y mexicanos (Villegas *et al.* 2014). Este mestizaje derivó en variedades de quesos mexicanos, todos elaborados con leche bronca de vaca o cabra (Cervantes-Escoto *et al.* 2013, Villegas *et al.* 2014, Villegas *et al.* 2015, Villegas *et al.* 2016).

Es aquí cuando nace el concepto queso del latín *caseus* que significa carente de suero, agregando que los legionarios agregaron el término *formatium* que significa moldeado, siendo *caseus formatus* la palabra asignada al queso moldeado (Villegas

et al. 2014). Los productos madurados se dieron a conocer debido a su largo periodo de preservación, siendo estos útiles para los monjes en sus largas travesías de evangelización (Villegas *et al.* 2014, Lozano-Moreno & Villegas 2016).

Los quesos eran conocidos por su conservación a temperatura ambiente, además que la maduración se realizaba sobre bestias de carga en bolsas de piel curtidas también llamadas “odres”, en los cuales, por el proceso de curtido natural de aquellos tiempos, se considera que le daba ciertas características agradables conforme pasaba el tiempo (Hernández-Briones *et al.* 2009).

Partiendo de este conocimiento de la colonia, la mayor parte de los quesos mexicanos genuinos se comenzaron a elaborar como un medio para conservar los excedentes de leche en el periodo de lluvias (Hernández-Briones *et al.* 2009, Villegas *et al.* 2014). La acumulación de queso durante estos meses y la orientación hacia el autoconsumo era cada vez más difundida con el paso de los años (Hernández-Briones *et al.* 2009, Cervantes-Escoto *et al.* 2013, Villegas *et al.* 2014,). Se logró un abastecimiento de la demanda en tiempos de estiaje, así, en las haciendas se comía queso fresco en el periodo de lluvias y el añejo en los meses siguientes (Hernández-Briones *et al.* 2009, Villegas *et al.* 2015, Villegas *et al.* 2016).

El almacenamiento del queso favoreció la maduración (Santos 2007, Teubner *et al.* 2009), enriqueció las características sensoriales (Ramírez-Rivera *et al.* 2017b, Ramírez-Rivera *et al.* 2018) y mejoró las condiciones de inocuidad (Chacón-Villalobos & Pineda-Castro 2009). El tiempo permitió consolidar técnicas de elaboración y las convirtió en una tradición genuina mexicana (Cervantes *et al.* 2009, Villegas 2009). Hoy en día los quesos artesanales realizados bajo condiciones similares a la colonia incorporan sabores, aromas y texturas únicas a la gastronomía mexicana siendo reconocidas ante la UNESCO en 2010 como patrimonio inmaterial de la humanidad (UNESCO 2018).

1.6. Los quesos mexicanos

De manera general los quesos mexicanos han tenido un proceso de mejora continua a lo largo de las generaciones, fortaleciendo el mestizaje alimentario de las zonas indígenas que incorporan a través de sus cultura procesos nativos tal como lo es deshebrado de la cuajada del queso Oaxaca (Domínguez-López *et al.* 2011), molido a mano con metate como el queso de aro en Oaxaca (Gonzales-Montiel & Franco-Fernández 2015), salado en masa con sal marina granulada, moldeado en cestos de palma, mimbre, prensas de madera o corteza de árboles nativos, piedras o mecanismos rústicos de desuerado (Villegas *et al.* 2015).

Con el pasar del tiempo la incorporación de especias mexicanas como pigmento del chile pimienta (*Capsicum annum spp*) (Escobar-López *et al.* 2017), pasta de achiote (*Bixa orellana*) (Perez *et al.* 2003), hierbas como el epazote (*Chenopodium ambrosioides*) (Escobar-López *et al.* 2017), frutas como el mango ataulfo (*Mangifera indica*), nanche (*Byrsonima crassifolia*), hortalizas como el aguacate (*Persea americana*) (Alvizouri-Muñoz & Rodríguez-Barrón 2009) han inspirado la creación de quesos botaneros (Vázquez-Fontes *et al.* 2010).

De acuerdo a lo citado por Villegas *et al.* (2015) en el libro Valorización de los quesos mexicanos genuinos: conocimiento, degustación, acompañamiento y gastronomía; los quesos definidos como artesanales mexicanos se categorizan en: 1) Rancheros pudiendo ser de pasta molida “aro” también llamados frescos. 2) Adobados siendo de pasta molida, prensada: frescos, oreados o algo madurados. 3) quesos añejos elaborado de cuajadas molidas, escurridas, prensadas, oreadas o secadas durante un periodo largo de reposo. 4) asaderos o de pasta hilada de reciente aparición a finales del siglo XIX (Queso Oaxaca de Etna, Asadero de Durango) con propiedades de fundición.

1.7. Importancia sociocultural de los quesos artesanales

Los quesos antes mencionados tienen un rol importante en el desarrollo rural de los pueblos indígenas de México (González-Cordova *et al.* 2016, Lozano-Moreno &

Villegas 2016). Se destaca que pequeños a medianos ranchos productores de leche que no encuentran cabida dentro de las cadenas industrializadas aportan producto al mercado, estabilidad al precio de la leche frente a efectos de estacionalidad, generando consigo oferta de empleo, valor agregado a sus productos generados, mejorando los ingresos, creando en ellos mismos espacios rurales para este tipo de actividad pecuaria pudiendo crecer a futuro y fortalecerse como empresas pecuarias (Hernández-Briones *et al.* 2009, Gamboa-Alvarado 2011, Torres-Villa & Barragán-López 2016).

Se hace notar que la importancia de aprovechar la leche que se produce en la región y transformarla; contribuye a mantener los quesos mexicanos que forman parte de la seguridad alimentaria y de identidad nacional de un país (Villegas *et al.* 2014, López-Aquino & Méndez-Altamirano 2016, Lozano-Moreno & Villegas G. 2016, Cervantes-Escoto *et al.* 2017, Ramírez-Rivera *et al.* 2018).

El aporte de proteína que se genera a los sectores con bajos ingresos económicos y la preservación de la gastronomía regional contribuyen a la reducción de la dependencia alimentaria de productos sustitutos de menor calidad nutricional (los pseudoquesos, imitación de queso) (Cervantes-Escoto *et al.* 2013, Villegas *et al.* 2014, Villegas *et al.* 2015, Cervantes-Escoto *et al.* 2017).

Lo antes expuesto, permite afirmar que los quesos mexicanos deben dejar de percibirse como simples derivados lácteos, para entenderse como bienes culturales destacados, promotores de desarrollo local y de crecimiento regional (Villegas 2009, Ramírez-Rivera *et al.* 2018).

Debido a su importancia y a lo complejo que resulta generar una clasificación (debido a que existen queserías artesanales en todo el territorio nacional), así como registrar el total de su producción de las explotaciones artesanales lecheras deriva la intención de generalizar este tipo de producciones como genuinas artesanales (Villegas *et al.* 2014, Villegas *et al.* 2016).

1.8. Quesos genuinos artesanales

La palabra genuino es aceptado como: “aquello que es derivado de... y por lo tanto pertenece a”, refiriéndose a lo derivado en México y por lo tanto pertenecen al país nativo donde se elabora (Villegas *et al.* 2014). La palabra genuino de acuerdo con el RAE (2018) significa aquello que es puro, propio, legitimo, natural, adecuado y autentico. Sin embargo, la palabra artesanal tiene una aplicación histórica, cultura y de saber-hacer (Ramírez-Rivera *et al.* 2018); acorde al RAE (2018) es aquel arte que se le imprime un sello personal y que es único.

La definición establecida por el *Codex Alimentarius* (CODEX-STAN 2013), se entiende por alimento genuino aquel que responde a especificaciones reglamentarias, no contiene sustancias no autorizadas ni agregados que configuren una adulteración, y se expendan bajo la denominación y rótulos legales, sin indicaciones, signos o dibujos que puedan engañar respecto a su origen, naturaleza y calidad.

En resumen, se entiende por quesos genuinos artesanales, aquellos que son elaborados por artesanos queseros propios de la región, lo cual, que con esmero logran piezas únicas, legítimas, naturales, auténticas que representan la historia, cultura y saber-hacer de una región (Villegas 2009, Cervantes-Escoto *et al.* 2013, Villegas *et al.* 2015, Villegas *et al.* 2016, Ramírez-Rivera *et al.* 2018).

1.9. Valorización de acuerdo con la región o país de origen

La diversidad geográfica, climática y orográfica de un país como México dan lugar a condiciones ecológicas complejas donde la ganadería se autosustenta en parte de la producción quesera y otros productos lácteos (Gómez-Alvarado *et al.* 2010, Hernández-Cervantes *et al.* 2010, Grass-Ramírez *et al.* 2013, Villegas *et al.* 2014). Proporcionándole a cada queso una propiedad histórica de cada lugar, ya que cada lácteo ha ido evolucionando desde la colonia hasta la actualidad, añadiéndole con el paso del tiempo mayor valor cultural y gastronómico (Ramírez-López & Vélez-

Ruiz 2012b, Villegas & Cervantes-Escoto 2011, Grass-Ramírez & Cesín-Vargas 2014).

Cada producto lácteo del territorio nacional o nacionalizado (Ej. Queso Chihuahua Menonita de Cuauhtémoc, del estado de Chihuahua) va distribuyéndose a lo largo del territorio nacional (Villegas *et al.* 2014). Estas condiciones son más diferenciadas por condiciones ecológicas y ambientales (Ramírez-Rivera *et al.* 2018) y del conocimiento tradicional del territorio donde se elaboran (Hernández-Briones *et al.* 2009, Ramírez-López & Vélez-Ruiz 2012b, Torres-Villa & Barragán-López 2016).

Un ejemplo de un queso difundido por gran parte del territorio mexicano es el queso Oaxaca que se elabora en todo el país (Ramírez-Nolla & Vélez-Ruiz 2012a, Villegas *et al.* 2014); sufriendo diversas modificaciones en su proceso de elaboración (Ramírez-López & Vélez-Ruiz 2012b), siendo motivo de investigación, pudiendo ser no solo elaborado de leche fermentada en su forma nativa sino también acidificado (Lodoño 2006) por suero fermentado (Aguilar-Uscanga *et al.* 2006. Ramos-Gabriel *et al.* 2019), leche fermentada, ácido láctico, cítrico, acético o cultivos ácido lácticos (Domínguez-López *et al.* 2011, Castro-Castillo *et al.* 2013, Gonzales-Montiel & Franco-Fernández 2015).

1.9.1 Problemática de los quesos mexicanos genuinos

Tal como se menciona el caso del queso Oaxaca, este reviste de importancia económica múltiple al país en cuanto a producción láctea se trata, el cual ha tenido mejoras culinarias y sensoriales en cada región donde se elabora adoptando el término “*tipo*” al no ser elaborado en la región de procedencia (Ramírez-López & Vélez-Ruiz 2012b, Villegas *et al.* 2014, Villegas *et al.* 2016).

Sin embargo, al enfrentarse a un entorno cambiante influido por la globalización, se enfrentan situaciones como: elaboración en pequeña escala con poca capacidad productiva, unidades dispersas con escasa vinculación e innovación (Villegas *et al.* 2015, Cervantes-Escoto *et al.* 2017), heterogénea calidad (Ramírez-López & Vélez-Ruiz. 2012b, Lozano-Moreno & Villegas G. 2016), limitada difusión en el mercado

(Torres-Villa & Barragán-López 2016), escasa valoración del producto (debido al uso de leche cruda) (Durán 2016), desconocimiento microbiológico y nutricional (Villegas *et al.* 2014, Villegas *et al.* 2016) por los propios queseros e instituciones certificadoras, restricciones normativas establecida por el sector industria lo que favorece la competencia desventajosa y desleal en el precio frente a los quesos de imitación (Hernández-Briones *et al.* 2009, Cervantes-Escoto *et al.* 2013, López *et al.* 2016, Cervantes-Escoto *et al.* 2017).

1.10 Definición de queso

El *Codex Alimentarius* define al queso como un producto blando, semiduro, duro y extraduro, madurado o no madurado que puede estar recubierto, en el que la proporción entre las proteínas de suero y la caseína no sea superior a la de la leche (CODEX-STAN 2013).

De acuerdo a la NOM-121-SSA1-1994, los quesos son productos elaborados con la cuajada de la leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras especies animales, con o sin adición de crema, obtenida por la coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas, ácidos orgánicos comestibles y con o sin tratamiento ulterior por calentamiento, drenada, prensada o no, con o sin adición de fermentos de maduración, mohos especiales, sales fundentes e ingredientes comestibles opcionales, dando lugar a las diferentes variedades de quesos pudiendo por su proceso ser: fresco, madurado o procesado.

El proceso de elaboración del queso es fundamentado en la coagulación de la leche denominado cuajado por el fenómeno donde se produce en la desestabilización de la caseína (proteína de la leche), originando la aglomeración de las micelas libres (caseína, grasa, etc.) y otros compuestos; formando un gel, en el quedan suspendidos diversos compuestos de la leche incluyendo el lactosuero (López-Gómez & Madrid-Vicente 2003, Santos 2007, Teubner *et al.* 2009, López-Aquino & Méndez-Altamirano 2016).

López-Gómez & Madrid-Vicente (2003) y Teubner *et al.* (2009) simplifican al queso como fenómeno fisicoquímico ocurrido por la presencia de coagulante (sea fermento láctico y/o ácido láctico) en la leche da como resultado una fase líquida radicada en el suero y una fase sólida denominada cuajada (sólidos totales).

1.11. Composición del queso

Los quesos son un producto lácteo que dependiendo de la leche utilizada tendrán presencia de agua, materia seca: lactosa, proteína, lípidos y cenizas en mayor proporción (Teubner *et al.* 2009).

1.11.1. Agua

Principal elemento presente en todos los quesos (Teubner *et al.* 2009, Gómez-Alvarado *et al.* 2010, Hernández-Cervantes *et al.* 2010, López-Aquino & Méndez-Altamirano 2016, Soodam *et al.* 2017). Sea atrapada en el suero o en la masa drenada, el agua desempeña un papel importante en el metabolismo bioquímico de los compuestos de la cuajada (Badui-Dergal 2013), otorga cualidades de color y es factor esencial en la vida de anaquel de un producto (El-Soda & El-Salam 2011, López-Guzmán *et al.* 2012, Villegas 2012, Mathias-Rettig & Ah-Hen 2014, Giannoglou *et al.* 2016, López-Aquino & Méndez-Altamirano 2016, Gambaro *et al.* 2017).

1.11.2. Lactosa

La lactosa es el segundo componente más abundante de la materia seca (M. S.) del queso (sólidos totales). Es un carbohidrato que solo se encuentra en la leche y los productos lácteos (Villegas 2012). La lactosa es un glúcido o disacárido, formado por monómeros de una molécula de α o β glucosa y de una β -galactosa (López-Gómez & Madrid-Vicente 2003). El suero contiene casi toda la lactosa del proceso de la leche, por lo que su presencia en quesos frescos representa la mayor cantidad y conforme van madurando esta proporción se vuelve mínima (Santos 2007, Teubner *et al.* 2009, Drake & Delahunty 2017, Perreault *et al.* 2017).

Los carbohidratos (lactosa y galactosa) contenidos en los quesos son degradadas por reacciones enzimáticas producto de las bacterias ácido-lácticas (BAL) ácido láctico, gas y agua (Sánchez-Ponte 2003, Oliveira *et al.* 2012, Perreault *et al.* 2017). Parte del ácido láctico que se encuentra ligado al calcio forma lactato de calcio, lo que da mayor rendimiento y retención de sólidos totales al momento del desuerado (Lodoño 2006, Gámbaro *et al.* 2017, Miloradovic *et al.* 2017).

Las cualidades químicas que le otorga la lactosa al queso se encuentra la propiedad reductora, la hidrólisis de ácidos orgánicos e inorgánicos, polaridad y baja temperatura de fusión (López-Gómez & Madrid-Vicente 2003). La lactosa es el azúcar natural de la leche (Villegas 2012), este es 30 veces menos dulce lo que permite en los quesos la reacción de Maillard (Teubner *et al.* 2009). Esta última reacción contribuye a la bajada del pH, desprendimiento de CO₂, producción de compuestos reductores, disminución del valor nutritivo, oscurecimiento u oxidación conforme avanza la maduración (López-Gómez & Madrid-Vicente 2003, Santos 2007, Teubner *et al.* 2009).

1.11.3. Caseína

La caseína deriva del latín que significa queso, siendo la proteína con mayor importancia y presencia en la cuajada (Ribadeau-Dumas & Grappin 1989, Swaisgood 1993, Teubner *et al.* 2009).

La parte proteica de los quesos se puede dividir en dos segmentos; las caseínas (85-95% de presencia) y las proteínas presentes en suero (15-5%) (López-Gómez & Madrid-Vicente 2003, Villegas 2012). Las proteínas lácteas se clasifican en caseínas αS_1 , αS_2 , β , κ , γ y proteínas del suero β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina, inmunoglobulinas, seroalbumina bovina, proteínas menores y proteosomas-peptonas (Santos 2007, Villegas 2012).

1.11.4. Materia grasa

A la materia grasa del queso se le conoce como grasa butírica (López-Gómez & Madrid-Vicente 2003, Santos 2007, Villegas 2012). Su importancia radica en la

conservación y función de generar compuestos sensoriales de suma importancia en la maduración (Chamorro & Lozada 2002, O'Callaghan *et al.* 2017). La grasa butírica es compleja, debido a la amplia gama de ácidos grasos identificándose más de 100 ácidos grasos diferentes, dividiéndose en saturados e insaturados (Villegas 2012).

Las funciones de los ácidos grasos en la grasa butírica otorgan: consistencia, características organolépticas (olor, sabor y aroma a rancidez) (Chamorro & Lozada 2002), influyen en los Compuestos Orgánicos Volátiles (COV) de las rutas metabólicas durante el reposo, auxiliares en el punto de fusión y en la oxidación que otorga el color durante la maduración (Valencia *et al.* 2007, Soodam *et al.* 2017). Los fosfolípidos forman parte de la membrana del glóbulo de grasa y los carotenoides de importancia como precursores vitamínicos, responsables del color de la grasa butírica y su presencia de los compuestos antes mencionados está influida por la alimentación y especie del animal (Etchevers *et al.* 2010, O'Callaghan *et al.* 2017).

1.11.5. Vitaminas

Los quesos son ricos en vitaminas liposolubles, y en menor proporción hidrosolubles (López-Gómez & Madrid-Vicente. 2003, Villegas *et al.* 2004, Santos 2007, Etchevers *et al.* 2010). La grasa butírica es el componente más abundante en quesos madurados (Valencia *et al.* 2007, Teubner *et al.* 2009, Soodam *et al.* 2017). A mayor contenido graso de la leche, mayor es su riqueza en vitaminas liposolubles, y conforme avanza la maduración estas permiten la conservación como cofactores a través de la rancidez hidrolítica u oxidativa (Villegas *et al.* 2004, Soodam *et al.* 2017).

Las vitaminas lipofílicas o antioxidantes son: retinol (A), calciferol (D), tocoferol (E) y filoquinona (K) (Perreault *et al.* 2017, Soodam *et al.* 2017). Las vitaminas hidrosolubles o del complejo B son: tiamina (B₁), riboflavina (B₂), niacina (B₃), ácido pantoténico (B₅), piridoxina (B₆), biotina (B₈), ácido fólico (B₉), cobalamina (B₁₂), que difieren en cuestión al tipo de leche usada, raza de ganado, alimentación e insumos

utilizados en la elaboración del queso (López-Gómez & Madrid-Vicente 2003, Etchevers *et al.* 2010, O'Callaghan *et al.* 2017).

1.11.6. Elementos minerales

El contenido mineral de los quesos madurados oscila entre el 1.2 y el 4.5%, contienen mayor presencia el Ca, P y el Mg presentes en las micelas proteicas (caseínas) o en fase plasmática aportando entre el 30 al 40% de las necesidades diarias de consumo (Teubner *et al.* 2009, Villegas 2012). Factores que modifican o hacen menos disponibles la presencia de minerales en el queso son: modificación del contenido graso, adición de sales, adición o retiro de agua, prensado por periodos largos, variación de pH, los cambios de temperatura durante la elaboración y maduración (López-Gómez & Madrid-Vicente 2003, Villegas 2012).

Los metales pesados (Al, As, Cd y Pb), elementos mayoritarios (Ca, K, Na, Cl, Mg), esenciales (Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Se, Zn), y otros elementos (Ni y Sr), son de presencia en quesos madurados (Santos 2007, Teubner *et al.* 2009, Ramírez-López & Vélez-Ruiz 2012, Varming *et al.* 2013, Ramírez-Rivera *et al.* 2017b). Los metales pesados no deben exceder los límites máximos permitidos indicados en las normas NOM-243-SSA1-2010, CODEX-STAN 2013 y Commission Regulation (EC)-1881.

1.12. Microbiología de la leche para quesería

La leche cruda es considerada un producto vivo con nutrientes para la permanencia de una gran cantidad de microorganismos (Santos 2007). La presencia de microflora altera la composición, perecibilidad de la leche y del producto final (Etchevers *et al.* 2010, Vázquez-Fontes *et al.* 2010, Castro-Castillo *et al.* 2013). Este problema se puede reducir sometiendo la leche a un proceso térmico "pasteurización", con el fin de incrementar su vida de anaquel, reducir su carga microbiana y reducir el riesgo de transmisión de enfermedades (Santos 2007, Villegas 2012, Juárez-Barrientos *et al.* 2016).

Aunque la pasteurización parece un procedimiento aplicado a tener productos más inocuos es preciso ampliar que existen bacterias termófilas y termodúricas

resistentes a procesos térmicos; bacterias siccótrofas, siccófilas resistentes a temperaturas de maduración menores a 7 °C (López-Gómez & Madrid-Vicente. 2003, Parra-Huertas 2010, Villegas 2012).

Muchos compuestos aromáticos, de sabor y microorganismos fermentativos benéficos se pierden durante la pasteurización (Chamorro & Losada 2002, Miloradovic *et al.* 2017). Es por lo que en sistemas que cuentan con tecnología quesería adecuada implementan la aplicación de cultivos bacterianos seleccionados para la elaboración de diversos quesos (Etchevers *et al.* 2010, Villegas 2012). El utilizar leche bronca para la elaboración de un queso genuino no es reflejo de falta de inocuidad, muchos quesos con denominación de origen alrededor del mundo son elaborados con leche cruda en adición a cepas bacterianas y madurados bajo largos periodos de reposo (Espinosa *et al.* 2008, Ramírez-López & Vélez-Ruiz 2016, Ramos-Gabriel *et al.* 2019).

Diversa microbiota presente en los quesos madurados ofrece cualidades fermentativas lo que da como resultado características únicas para cada queso (Sánchez-Ponte 2003, Oliveira *et al.* 2012, Castro-Castillo *et al.* 2013, Ramírez-López & Vélez-Ruiz 2016). Algunas de estas bacterias lácticas (BAL) producen CO₂ producto de la degradación de lactosa (Santos 2004, Santos 2007) lo que da pequeños orificios en la masa prensada tal como sucede con la bacteria (*Propionibacterium freudenreichii*) en el queso Emmental (Teubner *et al.* 2009), otros inhiben (*Lactococcus lactis, cremoris*) la proliferación de patógenos (Ramos-Gabriel 2018) asociados a coliformes ejemplo *Salmonella* como sucede en el queso artesanal (Aguilar-Uscanga *et al.* 2006, Villegas 2012, Ramírez-López & Vélez-Ruiz 2016).

Tabla II. Principales géneros de bacterias encontrados frecuente u ocasionalmente en quesos durante la maduración.

Morfología		Familia	Género
Cocos Gram positivos		<i>Micrococcaceae</i>	<i>Micrococcus</i> <i>Staphylococcus</i>
		<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus</i>
		<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Leuconostoc</i> <i>Lactobacillus</i>
		<i>Brevibacteriaceae</i>	<i>Brevibacterium</i> <i>Microbaacterium</i> <i>Bifidobacterium</i>
Bacilos Gram positivos	No esporulados	<i>Actinomycetaceae</i>	<i>Corynebacterium</i> <i>Listeria</i> <i>Mycobacterium</i>
	Esporulados	<i>Mycobacteriaceae</i>	<i>Campylobacter</i> <i>Coxiella</i> <i>Propionibacterium</i>
Bacilos Gram negativos		<i>Bacillaceae</i>	<i>Bacillus</i> <i>Clostridium</i> <i>Pseudomonas</i>
	<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Alcaligenes</i> <i>Acinetobacter</i> <i>Flavobacterium</i> <i>Aeromonas</i>	
	<i>Parvobacteriaceae</i>	<i>Pasteurella</i> <i>Brucella</i>	
	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia</i> <i>Citrobacter</i> <i>Klebsiella</i> <i>Enterobacter</i> <i>Serratia</i> <i>Proteus</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> <i>Yersinia</i>	

Bacterias Lacticas (BAL)

Coliformes

Datos tomados de Villegas 2012.

1.13. Metabolismo de la microbiota del queso

Los microorganismos tanto en la leche como en el queso se pueden ordenar de manera decreciente como bacterias, levaduras y hongos; forman parte de la microflora natural de los quesos no pasteurizados que influyen en su deterioro o maduración (Martínez-López *et al.* 2016).

El metabolismo microbiológico bacteriano empieza desde la leche, continúa en la coagulación y perdura en la maduración. En los quesos de leche pasteurizada es necesario inocular bacterias lácticas seleccionadas (Etchevers *et al.* 2010). Las BAL como cultivos liofilizados aseguran un balance de ácido láctico mediante la fermentación de la lactosa por medio de la glicólisis (Santos 2007, Etchevers *et al.* 2010, Cesín-Vargas 2014). Este ácido promueve la formación y desuerado de la cuajada, evitan que crezcan microorganismos patógenos debido a la disminución del pH, confiriéndole un sabor ácido al queso (Lodoño 2006, Etchevers *et al.* 2010).

Las BAL son responsables de diferentes rutas metabólicas causantes del olor, color, sabor y textura. La acción de los microorganismos sobre el sustrato en las diferentes fermentaciones de la leche y del queso son: proteolítica (desdoblamiento proteico), lipolítica (degradación de la grasa butírica), glicolítica (fermentación de la lactosa) y otros compuestos (A. cítrico) (Villegas 2012).

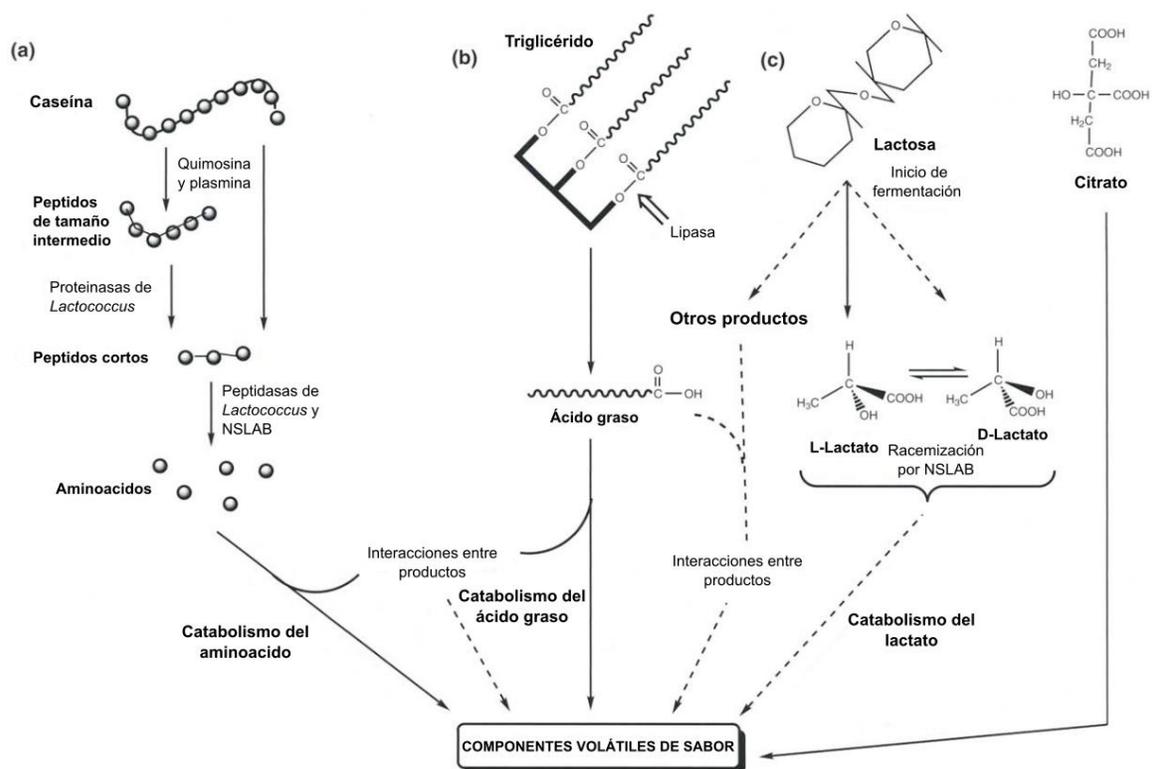


Figura 3. Rutas metabólicas primarias del queso durante la maduración (McSweeney 2017).

1.14. Actividad bioquímica del queso

Durante la maduración suceden diversos procesos que afectan la calidad fisicoquímica, microbiológica, bromatológica y sensorial (Chamorro 2002, Santos 2007, Teubner *et al.* 2009, Guinee & Kilcawley 2017, McSweeney 2017). La proteólisis, lipólisis y glicólisis representan reacciones metabólicas de hidrólisis de la caseína, triglicéridos y lactosa (Santos 2007, Guinee & Kilcawley 2017).

1.14.1. Proteólisis

Proceso proteico en el cual, una proteína es desdoblada a compuestos más simples (aminoácidos), debido a efectos proteolíticos producto de la maduración láctea (Badui-Dergal 2013). Estos desdoblamientos son realizados por microbiota nativa o introducida que tienen presencia de enzimas “proteasas”, entre las que destacan la renina, pepsina y tripsina causantes de la degradación, producción y formación de compuestos de interés bioquímico, nutricional y sensorial (McSweeney 2017).

Las proteínas, aminoácidos y otros constituyentes productos de las rutas bioquímicas dan como resultado la presencia de elementos básicos (C, H₂, O₂, N₂, S, P) esenciales para la presencia y pábulo de bacterias que afectan la maduración. La ruptura de proteínas da lugar a un gran número de ácidos, alcoholes, gases (hidrogeno, anhídrido carbónico, metano, sulfuro de hidrogeno y amoniaco) (Murray *et al.* 2012) de importancia en una caracterización quesera (Villegas *et al.* 2014).

La maduración influye no solo en la digestión del queso sino en la degradación de proteínas que intervienen en la liberación de amoniaco y otros compuestos nitrogenados que impregnan de sabor, otorgando aspecto y textura al queso (Delgado *et al.* 2011). El grado de aminoácidos libres presentes en el queso es consecuencia del avance de la proteólisis, lo que permite identificar el periodo de maduración que ha sido sometido una cuajada (Teubner *et al.* 2009).

1.14.2. Lipólisis

Proceso por el cual la grasa es catalizada por enzimas propias de la leche o de origen bacteriano (Badui-Dergal 2013). La enzima de mayor importancia es la

lipasa, que mediante la degradación de lípidos da como resultado ácidos grasos libres, monoglicéridos, diglicéridos, triglicérol, etc. (López-Gómez & Madrid-Vicente 2003). Algunos de ácidos grasos volátiles dan lugar a olores fuertes, ejemplo de ello es el ácido butírico que otorga el característico olor a rancio (Chamorro & Losada 2002).

La hidrolisis de ácidos grasos afecta en el sabor del queso a través de la maduración (Badui-Dergal 2012). A mayor tiempo de reposo los quesos van concentrando la grasa en su interior como en el exterior, lo que acentúa las tonalidades espectrales de color (amarillo) (Ramos-Gabriel *et al.* 2019). La oxidación de los ácidos grasos confiere intensidades de luz claras a oscuros (debido también a reacciones de Maillard) factor que influye en el consumo de quesos madurados (Badui-Dergal 2013). Estas transformaciones a través de madurez parecen otorgar notas aromáticas y reafirmar resabios al queso (Chamorro & Losada 2002).

1.14.3. Glicolisis

Proceso anaerobio por el cual los carbohidratos de la leche son degradados a compuestos como el ácido láctico (Badui-Dergal 2012). La lactosa es el principal hidrato de carbono fermentativo láctico de las Bacterias Acido Lácticas (BAL) teniendo como trascendental producto la degradación enzimática del lactato (López-Gómez & Madrid-Vicente 2003).

Aunque existen otras rutas fermentativas: la glucólisis es un coadyuvante en la formación de ácido acético, propiónico, CO₂, diacetilo entre otros compuestos. Estos procesos son realizados por organismos catalizadores dentro de los que destacan del género *Lactobacillus* (*L. lactis*, *L. cremoris*), *Streptococcus* (*S. lactis* y *S. diacetylactis*) promotores de aroma, sabor y textura sin embargo algunos microorganismos como *Staphylococcus* (*S. agalactie*, *S. coagulasa*) son causantes de enfermedades y deterioro del queso (Villegas 2012, Ramírez-López & Vélez-Ruiz 2016).

La lisis de la lactosa es originada en la coagulación, se mantiene durante el desuerado, continua durante el prensado y termina casi por completo hasta el

madurado. El ácido láctico siendo el principal compuesto de la degradación de lactosa no se acumula en la masa si no que sufre diversas transformaciones en su naturaleza química (Drake & Delahunty 2017, Guinee & Kilcawley 2017).

1.15. Factores que determinan la calidad del queso

Los procesos explicados no siempre son uniformes en todos los quesos, ya que pueden percibirse físicamente en la superficie de estos que en el interior de la masa. Esto, debido al cambio químico parcial (color), presencia de compuestos aromáticos (vinagre, rancio) (Chamorro & Losada 2002), es recomendable un volteo constante del queso para evitar un producto lácteo de mala calidad (Ramos-Gabriel *et al.* 2019). Esta actividad tiene gran importancia en maduraciones prolongadas viéndose afectada por la temperatura, humedad, pH, salado e iluminación (López-Gómez & Madrid-Vicente 2003, Villegas 2012).

2. JUSTIFICACIÓN

La diversificación tanto de la materia prima como en la elaboración de quesos en México es amplia, tal es el caso de la producción artesanal. Los quesos artesanales de bovino son considerados patrimonio cultural y de trascendencia social, económica, nutricional, política y científico tecnológico (UNESCO 2010). La tipificación está relacionada a la identificación de las características descriptivas y cuantitativas que permitan una discriminación del queso de interés. Lo que, desde el punto social, si no se procura que los productores de la región busquen la denominación de origen o marca colectiva, se genera el riesgo de pérdida del conocimiento artesanal del proceso de elaboración. *Ergo* en el aspecto financiero, puede disminuirse el flujo económico de pequeños y medianos productores de quesos madurados, debido a la introducción en la zona de quesos de tipo análogo, de baja calidad y precios bajos, provocando que la economía basada en el autoempleo se vea afectada. En el ámbito nutricional la carencia de información bromatológica sobre los quesos madurados pone en duda el nivel de calidad de los productos artesanales elaborados en diferentes regiones. En la vertiente de salud se desconoce la inocuidad de los productos elaborados por los productores de la región. En el ambiente político, los quesos artesanales han estado bajo observación normativa ocasionada por el sector lácteo industrial, generando por la poca capacidad productiva y la nula protección de marca, registro, certificación o denominación que cuentan los sistemas tradicionales queseros. En el aspecto científico tecnológico, no se tiene evidencia sobre las características fisicoquímicas, bromatológicas, microbiológicas y sensoriales de este tipo de productos, sin olvidar que conocer los productos artesanales fortalece las condiciones productivas y el conocimiento de los productores. Los aspectos antes mencionados son fundamento del estudio denominado: Tipificación del queso “prensa” madurado artesanal de Tataltepec de Valdés, Oaxaca.

3. HIPÓTESIS

La temporada y maduración repercuten significativamente sobre las características fisicoquímicas, bromatológicas, microbiológicas y sensoriales del queso artesanal madurado.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Tipificar el queso prensa artesanal madurado de Tataltepec de Valdés, Juquila, Oaxaca en dos temporadas y cuatro diferentes tiempos de maduración.

4.2. Objetivos específicos

Evaluar las características fisicoquímicas (pH, color) del queso a diferentes estados de maduración y temporada del año.

Determinar las características bromatológicas del queso a diferentes estados de madurez y temporada del año.

Conocer las características microbiológicas del queso a diferentes estados de maduración y temporada del año.

Realizar un estudio sensorial del queso a diferentes estados de maduración y temporada del año.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Área de estudio

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Tecnología de Productos Pecuarios (LTPP) de la Universidad del Mar, Campus Puerto Escondido, ubicado en la ciudad de Puerto Escondido, Oaxaca, México. Cuyas coordenadas son 15°53'18.74" N, 97°04'30.08" O y altitud de 83 m. s. n. m. (GPS Garmin eTrex 20x). El clima de la región es cálido subhúmedo con lluvias en verano de menor (A(c) w2 y Aw0), con dos estaciones bien marcadas (secas y lluvias), con una precipitación media anual entre 839.1 y 1587.1 mm y una temperatura media anual entre los 24 y 27.2 °C (Serrano-Altamirano *et al.* 2005).

La materia prima láctea empleada se obtuvo de la comunidad de Tataltepec de Valdez, Oaxaca que colinda con la Luz Tututepec y San Juan Lachao, de bovinos de la crucea $\frac{1}{4}$ suizo $\frac{3}{4}$ cebú, alimentadas de forrajes producidos en la región (rastroy de cacahuete (*Arachis hypogaea*), rastroy de maíz (*Zea mays*), alfalfa (*Medicago sativa*), zacate Guinea (*Megathyrsus maximus*), zacate King Grass CT-115 (*Pennisetum hybridum*)) bajo pastoreo intensivo y agua a libre acceso.

La elaboración de los quesos se realizó en el municipio de Tataltepec de Valdés distrito de Juquila, Oaxaca, México que presenta una temperatura y humedad ambiental promedio entre los 27 °C con 60% H. R. La evaluación fisicoquímica se realizó en el citado Laboratorio de Tecnología de Productos Pecuarios (LTPP) de la Universidad del Mar, Campus Puerto Escondido en un ambiente controlado a 23 °C con 65% de humedad relativa (H. R.). El análisis bromatológico se realizó en el Laboratorio de Análisis de Aguas, Alimentos y Lácteos de Oaxaca (LAAACTOLAB) en Santa Amalia, Oaxaca. El análisis microbiológico se realizó en el Laboratorio de Genética de la Universidad del Mar Campus Puerto Escondido. El análisis sensorial se realizó en el Aula 28 de la Universidad del Mar, Campus Puerto Escondido a temperatura y humedad ambiente.

5.2. Proceso de elaboración del queso

Se utilizaron 100 L de leche sin pasteurizar los cuales fueron filtrados y separados en dos recipientes con 50 L cada uno. Se agregó una dosis de 10 mL de cuajo marca Cuamex batalla™ (Chr. Hansen de México S. A. de C. V., México) a cada recipiente, la cual, fue diluida en 20 mL de agua purificada a temperatura ambiental (25 °C) antes de vaciarlas en cada uno de los recipientes con leche. Se etiquetaron los recipientes y se dejó reposar por 30 minutos. Una vez solidificada la leche, se procedieron a cortar las cuajadas, realizando posteriormente el desuerado, empleando diferentes mantas para cada uno de los recipientes. Una vez obtenidas dos masas drenadas, cada una de ellas fue cortada en cubos de 2 cm. Se procedió añadir uniformemente 3% de sal (NaCl) del peso de la masa a cada recipiente. Una vez salada se colocó sobre moldes de acero inoxidable cubiertas por mantas, prensado en madera de Macuil (*Tabebuia rosea*) por 48 horas. Pasado este periodo fueron sumergidos en agua caliente (90 °C) por unos segundos, posteriormente se colocaron los quesos en un cuarto oscuro de adobe repillado, sobre charolas plastificadas a temperatura (25 °C ± 2°C) y humedad ambiental (65% ± 5%). Se etiquetó cada queso con la fecha, periodo interanual, método de elaboración (cortado), codificación para el estudio fisicoquímico, bromatológico, microbiológico y sensorial.

5.3 Diseño experimental

El diseño experimental utilizado para el análisis fisicoquímico, bromatológico y microbiológico fue completamente aleatorizado y para el estudio sensorial se usó un diseño experimental optimizado, teniendo como principal fuente de variación dos periodos (lluvias y secas) y cuatro tiempos de maduración. Se analizaron 16 quesos madurados de pasta semidura. Los tratamientos experimentales evaluados; QT1: 1 semana de maduración (4 quesos evaluados), QT2: 3 semanas de maduración (4 quesos), QT3: 6 semanas de maduración (4 quesos) y QT4: 12 semanas de maduración (4 quesos) por temporada.

5.4. Evaluación fisicoquímica

5.4.1. pH

Se utilizó un potenciómetro/termómetro con electrodo de inserción Hanna® mod. HI 99163, calibrándose al inicio del trabajo. Se cumplió la metodología adaptada a la NMX-F-099-1970; Métodos de prueba para la determinación de pH en quesos procesados y ajustados acorde a la norma internacional BSI 770-5:1976 Métodos para el análisis químico del queso: Determinación del valor pH.

Las mediciones se registraron a 25 °C y se realizaron por cuadruplicado por cada periodo de tratamiento para tener una confiabilidad perceptible en los resultados (Gamboa-Alvarado *et al.* 2012), mezclando 10 mL agua destilada por cada 1 g de queso rallado en el multiprocesador de Alimentos Torrey® modelo TR220 para después realizar medición electrométrica de la actividad de los iones hidrogeno presentes en cada muestra colocando el electrodo a un cm de profundidad basado en lineamientos de la NMX-F-317-S-1978 para la determinación de pH en alimentos de carácter líquido, semisólido y sólido.

5.4.2. Color

Se evaluaron cada uno de los quesos por periodo y tratamiento. El sistema de referencia usado fue el CIE (1976) determinándose los valores L*, a*, b*, C*, h° con un espectrofotómetro de esfera X-rite modelo HI SP60 (intervalo espectral 400 nm a 700 nm, longitud de onda 10 nm), calibrándose al inicio bajo las condiciones ambientales de trabajo. Las determinaciones de este estudio se realizaron tomándose las mediciones en diferentes zonas del queso por cuadruplicado siguiendo la NMX-F-092-1970 de calidad para quesos procesados.

Dónde las variables a medir fueron: L*. Luminosidad, a* y b*. Coordenadas de cromaticidad, C*. Saturación o pureza del color y h°. Angulo o matiz de tonalidad (Mathias-Retting & Ah-Hen 2014, Delgado *et al.* 2011, Ramírez-Rivera *et al.* 2018).

Para estimar la variable C* se utilizó la fórmula matemática:

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

Dónde: C*. Saturación del color, a*. Intensidad de color rojo, b*. Intensidad de color amarillo.

Para calcular la variable h° se siguió la fórmula matemática:

$$h^{\circ} = \arctan (b^* / a^*)$$

Dónde: h°. Angulo o matiz de tonalidad, arctan. Función trigonometría arcotangente, b*. Intensidad de color amarillo, a*. Intensidad de color rojo.

5.5. Evaluación bromatológica

Se evaluaron cada uno de los quesos por periodo y tratamiento. El método de determinación utilizado para la extracción de Proteína Cruda fue basado en la NMX-F-608-NORMEX-2011, Grasa por hidrólisis acida basado en la NMX-F-427-NORMEX-2006, Cenizas basado en NMX-F-607-NORMEX-2013, Humedad basado en NMX-F-083-1986 acorde a NMX-F-111-1984 para productos lácteos. Obtenido lo anterior, se calculó el Extracto Libre de Nitrógeno (ELN) de acuerdo a lo especificado por FAO GCP/RLA/102/ITA. La información nutrimental derivada fue en base a la NOM-051-SCFI/SSA-2010, utilizando valores correspondientes al Sistema General de Unidades de Medida NOM-008-SCFI-2002. Las mediciones se realizaron por duplicado por cada tratamiento para obtener resultados reproducibles y confiables.

5.6. Análisis microbiológico

Las muestras de quesos fueron sometidas a evaluación, teniendo cuidado con la toma, manejo y transporte de muestras de acuerdo a la NOM-109-SSA1-1994 con el fin de monitorear los cambios dinámicos en la población responsables de la maduración de los quesos en dos temporadas (lluvias y secas).

La cepa de referencia utilizada fue *Staphylococcus aureus* subsp. aureus (ATCC® 43300™) proporcionada por el M. C. Carlos Alberto Castañón Sánchez del Hospital Regional de Alta Especialidad de Oaxaca. Una de las características importantes de *S. aureus* es su capacidad para secretar toxinas que dañan las membranas de las células del hospedero (Castañón-Sánchez 2012).

5.6.1. Extracción de ADN

Las muestras (2 g) se colocaron en tubos falcón estériles de 50 mL, disolviéndose en 10 mL de TEN (Tris-HCl 100 Mm, EDTA 50 mM, NaCl 500 mM a pH 8.0); la mezcla, se trató mecánicamente con perlas de vidrio de 3 mm de diámetro con ayuda de un vórtex se agitó por 5 min; posteriormente se añadieron 20 mL de citrato trisódico al 2% (p/v) y se mezcló en el vórtex durante 5 min. Se añadieron 120 µL de proteinasa K y lisozima, agitándose ligeramente e incubándose por 24 horas a 37 °C en la estufa.

Se transfirió a una alícuota de las muestras a tubos eppendorf estériles la fase acuosa. Se incubaron a 65°C durante 30 min. Se centrifugaron a 12,000 rpm por 15 minutos, posteriormente se transfirió la fase acuosa a un nuevo eppendorf estéril agregando 800 µL de fenol-cloroformo-alcohol isoamilico (25:24:1) y se centrifugó a 10,000 rpm por 10 min. Se transfirió la fase acuosa a un nuevo eppendorf estéril, agregando 800 µL de cloroformo-alcohol isoamilico (24:1) y se centrifugó a 10,000 rpm por 10 min. Se repitió el anterior proceso dos veces más. (Reyes-Gavilan *et al.* 1992).

Se agregó una relación de 1:1.5 de isopropanol y se añadió una relación de 10:1 volúmenes de acetato de amonio 10 M dejándose incubar a -20 °C por 24 h. Se centrifugó durante 10 minutos a 10,000 rpm y se decantó. Se lavó la pastilla con 800 µL de etanol al 70%, centrifugándose por 10,000 rpm por 5 min. Se decantó el líquido y se dejó secar por 3 h a 37 °C. Se rehidrato la pastilla en 5 µL de tampón TE (Tris-HCl 100 Mm, EDTA 50 mM a pH 8.0).

Se verificó la extracción mediante electroforesis en gel de agarosa al 0.08% (w/v) con buffer TAE 1X como disolución de corrida. Enseguida se cargaron 5 µL del producto amplificado y 3 µL de buffer de carga con SYBER GREEN (10:1) a 60 volts por 60 min. Finalmente se observó en el transiluminador.

5.6.2. Perfil de poblaciones microbianas mediante análisis de electroforesis en gel de gradiente desnaturalizante (DGGE)

El ADN se amplificó con cebadores 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') y 518R (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3') que abarcan la región V3 del ADNr 16S (bacterias), se agregó una abrazadera GC (5'-CGCCCGCCGCGCGGGCGGGC GGGGCGGGGGCACGGGGGG-3') unido al extremo 5' del cebador 338F, el tamaño del producto amplificado es de 200 pb (Cocolin *et al.* 2001). Así mismo, para hongos se utilizaron los cebadores MN100 (5'-TCCTACCCTTTGTGAATTTG-3') y MNGM2 (5'- CTGCGTTCTTCATCGTTGCG-3') que abarcan la región ITS1 del ADNr, agregando también una abrazadera GC (5'-CGCCCGCCGCGCGGGCGGGGCGGGGGCACGGGGGG-3'), tamaño del producto es de 250 pb (Edwards *et al.* 2008, Nicholson *et al.* 2010), Figura 4.

La amplificación fue realizada en el termociclador BioRad en un volumen final de 50 μ L conteniendo 1X de buffer, 2.5 mM de MgCl, 15 u/ μ L TaQ polimerasa (Amplificasa[®] Taq ADN polimerasa, BioTecMol), 0.4 mM dNTP's (Sigma), primers 0.0001 mM.

Para aumentar la especificidad de la amplificación, se realizó una PCR touchdown donde la temperatura de alineamiento partiendo de 65°C y decreciendo 1°C hasta que alcanzó la temperatura de 55°C, se llevaron a cabo 20 ciclos adicionales a 55°C. Usando la etapa de desnaturalización de 94°C por 1 min., y una extensión de 72°C por 1 min y una extensión final de 72°C por 10 min. Se verifico la ampliación mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% (w/v) con buffer TAE 1X, cargando 25 μ L del producto amplificado y 3 μ L de buffer de carga con SYBER GREEN (10:1) a 60 volts por 1 h.

El Sistema de Detección de Mutación Universal Dcode (Bio-Rad, CA, EUA) se utilizó para analizar por DGGE los productos de PCR obtenidos de las muestras analizadas. La electroforesis se realizó en geles de poliacrilamida de geles de acrilamida al 8% y 10% (proporción de acrilamida a bisacrilamida, 37:1) con un gradiente de desnaturalizante del 30–60% y 15-30%, para bacterias y hongos, respectivamente. Donde el 100% de desnaturalizante se define como urea 7 M más formamida al 40%, aumentando en la dirección de la electroforesis. La electroforesis

se realizó en 1 tampón TAE a 70 volts a 60°C durante 18 h. Las bandas de ADN en geles fueron visualizadas por SYBR Gold.

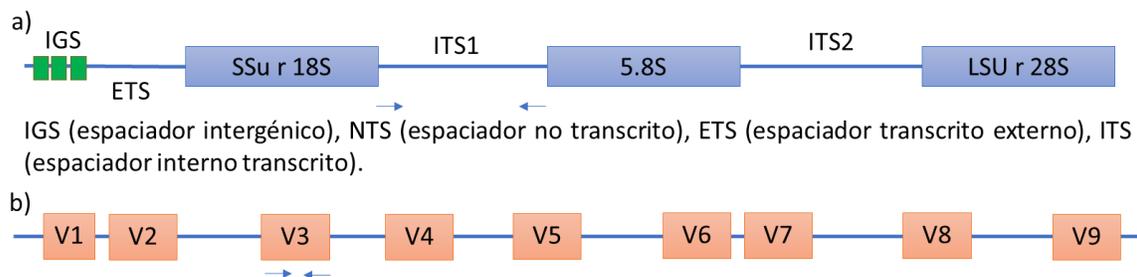


Figura 4. Ilustración de la posición de los primers universales utilizados en este trabajo: a) Hongos, b) Bacterias.

5.6.3. Cálculos de índice de abundancia y diversidad

Los geles obtenidos por DGGE se fotodocumentaron digitalmente y las imágenes fueron analizadas con el programa CLIQS 1D (TotalLab TL120 1D, v2009) obteniendo dendrogramas e intensidades de las bandas de cada muestra.

Con los valores arrojados de las intensidades relativas del pico de las bandas a través de los perfiles de bandeado de DGGE, se determinaron los índices de diversidad de especies e índice de Shannon-Weaver (Magurran 1998) basados en la taxonomía numérica (Sokal y Siseath 1963), utilizando el programa Past (Hammer *et al.* 2001).

5.6.4. Evaluación de la presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos artesanales maduros

El ADN genómico se extrajo como fue reportado previamente (sección 5.6.1.), se utilizó como cepa control *S. aureus* ATCC 43300®, cuyas características fenotípicas y genotípicas de esta se describen en la Tabla III.

Tabla III. Características fenotípicas y genotípicas de las cepas control

Cepa	Característica de la cepa	Fenotipo (oxa)	Genotipo (luk S/F-PV, mecA)
ATCC® 43300™	PVL -, MRSA	R	-, +

PVL: leucocidina de Pantón Valentine, SAMS: *S. aureus* meticilino sensible, SAMR: *S. aureus* meticilino resistente, S: sensible, R: resistente, Oxa: oxacilina, (+): positivo, (-): negativo.

Para la identificación de cepas para *Staphylococcus* se determinaron por PCR multiplex; se usaron primers específicos para *Staphylococcus* 23S rRNA con cebadores StaphyF (5'-ACGGAGTTACAAAGGACGAC-3') y StaphyR (5'-AGCTCAGCCTTAACGAGTAC-3'), siendo el tamaño del producto amplificado de 1251 pb (Straub *et al.* 1999, El-Sayed *et al.* 2006). Aunado clfAF (5'-GGCTTCAGTGCTTGTAGG-3') y clfAR (5'-TTTTTCAGGGTCAATATAAGC-3'), revelando el tamaño del producto de 900-1000 pb que codifica para *Staphylococcus* (Stephan *et al.* 2001, El-Sayed *et al.* 2006) y oligonucleótidos para *coagulasa* con primers CoaF (5'- ATAGAGATGCTGGTACAGG-3') y CoaR (5'-GCTTCCGATTGTTTCGATGC-3'), presentado el tamaño del producto amplificado de 580-660 pb (Hookey *et al.* 1998, El-Sayed *et al.* 2006).

Para la amplificación se usó un termociclador BioRad, la mezcla de reacción (50 μ L) contenía 1X de buffer, 2.5 mM de MgCl, 15 u/ μ L TaQ polimerasa (Amplificasa® Taq ADN polimerasa, BioTecMol), 0.4 mM dNTP's (Sigma), primers 0.0002 mM.

Los agregados PCR multiplex para *Staphylococcus* fueron sometidos a ciclos térmicos donde la temperatura de alineación fue de 94°C durante 5 minutos, continuo de treinta ciclos adicionales, mantenido una desnaturalización a la misma temperatura por 1 minuto, seguido de una hibridación a 65°C por 2 min, 58°C por 2 min y 57°C por 2 min. Aunado una extensión a 72°C por 1.5 min y una elongación final de 72°C por 10 min. Los productos se comprobaron por electroforesis en gel de agarosa al 2% (w/v) con buffer TAE 1X (40 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA/I, 1.14 μ l/l de ácido acético glacial, pH 7.8), cargando 35 μ L del producto amplificado y 3 μ L de buffer de carga SYBER GREEN (10:1) a 60 volts por 1 hr.

5.7. Evaluación sensorial

5.7.1 Preparación de las muestras para análisis sensoriales

Cada catador degustó 20 g de queso. Las muestras fueron codificadas a tres dígitos, presentadas en vasos de plástico transparentes (Ramírez-Rivera *et al.* 2017a). Adicionalmente entre degustaciones se les proporcionó agua y una galleta simple para eliminar posibles residuos que hayan quedado de la muestra anterior.

5.7.2. Métodos afectivos

5.7.2.1 Estudio de consumidores

El estudio se realizó con una muestra de 120 personas (mujeres y hombres con edades entre 17 a 55 años) de la Universidad del Mar, Campus Puerto Escondido. Los jueces no entrenados fueron seleccionados acorde a criterios ISO standard 8586-1 (ISO 1993) e ISO standard 11035 (ISO 1994). Se determinó la disponibilidad de cada interesado para participar, la motivación de participar en el proyecto y la no aversión a los quesos madurados de acuerdo con ISO standard 8586-1 (ISO 1993). Los resultados obtenidos fueron procesados mediante medias aritméticas, aceptando como valores favorables los más discriminativos.

5.7.2.2. Pruebas de preferencia, aceptación y actitud de consumo

A cada consumidor se le proporcionó una hoja detallada de los criterios organolépticos a evaluar por tratamiento, entre muestras se les proporcionó pan blanco y agua para eliminar aromas y resabios de la muestra anterior (Hayaloglu *et al.* 2013, Ramírez-Rivera *et al.* 2017b).

Para efectos de evaluación se usó una escala hedónica no estructurada de nueve puntos, donde 1= me disgusta muchísimo y 9= me gusta muchísimo y a cada consumidor se le entregaron muestras de queso rectangulares de 1.5 cm por ancho x 3 cm de largo de manera aleatoria, codificada a cuatro dígitos y presentadas de manera monádico secuencial a los consumidores (Ramírez-Rivera *et al.* 2018).

5.8. Análisis estadístico

La información de aspectos fisicoquímicos y bromatológicos se analizó por medio de análisis de varianza y comparación de medias con el estadístico de prueba Tukey ($P < 0.05$); mediante el programa estadístico SAS (SAS 2003).

El cálculo de riqueza de filotipos (OTUS) (S) e Índice de diversidad de Shannon (H') se realizó con el paquete estadístico Past (Hammer *et al.* 2001). El dendrograma fue construido usando el software TotalLab TL120 1D versión 2009 (Nonlinear Dynamics, USA). El análisis de correspondencia múltiple para bacterias se analizó por medio del lenguaje de programación R versión 3.2.5 (R Core Team, 2016), con la paquetería "FactoMineR" (Husson *et al.* 2017). Se usaron las elipses de confianza para determinar la relación del tratamiento con las bacterias (OTUS) y la respuesta (presencia o ausencia).

El análisis sensorial aplicado a los diagramas de barras y gráfico radial fueron construidos en base a medias aritméticas mediante hojas de cálculo de Microsoft Excel (Excel 2013).

6. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1. Evaluación fisicoquímica

6.1.1. pH

Las medias de los cuadrados mínimos ($\bar{X} \pm EE$) para las características fisicoquímicas de pH del queso prensa por efecto de temporada y tiempo de maduración son reportadas en la tabla (IX).

El menor pH se encontró en lluvias y secas a 12 semanas ($P \leq 0.05$), seguido del queso de lluvias a una y tres semanas y en secas el de tres semanas fue similar al de 6 semanas, presentándose el mayor valor de lluvias a seis semanas y en secas a una semana de reposo. Existiendo diferencias entre ambos periodos por efecto de tratamiento ($P \leq 0.001$).

Los resultados obtenidos en esta investigación están dentro del parámetro de 5 a 6 pH, señalado en la NMX-F-092-1970; lo cual coincide con valores obtenidos en quesos mexicanos artesanales elaborados con leche bronca como el queso tipo Manchego (5.3 pH) (Gamboa-Alvarado *et al.* 2012), el Añejo de Zacazonapan (5.2 pH) (Rebollar-Rebollar *et al.* 2011). De igual manera, el queso que comparte similitud con el producto de esta investigación es el Cotija Región de Origen^{MC} (4.8 - 5.8 pH) con maduración de al menos tres meses (Hernández-Briones *et al.* 2009, Villegas *et al.* 2016).

Estos valores fluctuantes entre cada periodo de maduración son relacionados con maduraciones cortas a prolongadas con factores influyentes orientados a la microbiota nativa (Villegas-de Gante 2016). Un pH ácido produce un efecto antimicrobiano-preservativo de manera que el queso puede conservarse por más de 90 días (Teubner *et al.* 2009). Esta conservación a pH ligeramente bajos (4.6 - 6) que se da través de la maduración (Talbot-Walsh *et al.* 2019), favorece la aparición de atributos agradables al consumidor relacionados a leches altas en lactosa (Navas 2016). En adición, el ambiente ácido reduce la reacción de Maillard debido a prolongados tiempos de reposo que involucran pérdida de humedad y actividad de agua, lo que a su vez ejerce una actividad reductora de las bacterias

en su metabolismo fermentativo (Badui 2013). Una reacción no enzimática atribuible al reposo, puede estar relacionado al oscurecimiento visible de los quesos en la maduración, lo que hace que el intercambio catiónico reduzca el pH conforme avanza el tiempo (Delgado *et al.* 2011).

En parte la conservación, es derivada del nulo tratamiento térmico que es sometida la leche, esto da cabida a que la presencia de BAL heterofermentativas del género (*Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Lactococcus*) nativas del producto favorezcan la rápida fermentación de la lactosa al inicio de la maduración (Gamboa *et al.* 2012, Castro-Castillo *et al.* 2013, Martínez-López *et al.* 2016, Ramírez-López & Vélez-Ruiz 2016, Kamimura *et al.* 2019). Santos (2007), Villegas (2012) y Cesín-Vargas (2014) mencionan que niveles altos de carbohidratos en leche para quesería mantienen niveles altos de lactosa y la glicolisis (ruta fermentativa) favorecen la presencia de ácido láctico lo que es reflejada en el potencial de hidrogeno (Romero-Castillo *et al.* 2009) para cada tiempo de maduración reportado en esta investigación.

Otros cambios fisicoquímicos ligados al potencial de hidrogeno son de carácter estructural (Vyhmeister *et al.* 2019); es el hecho que quesos frescos (1 a 3 semanas) con un mayor contenido de humedad disminuye la masticabilidad, dureza y elasticidad del queso (Rogers *et al.* 2009), mientras que un aumento en el pH en quesos después de 6 semanas los incrementa, a la par que disminuye la adhesividad (Žolnere *et al.* 2019).

Tabla IV. Efecto de tiempo de maduración en potencial de hidrogeno (pH; media \pm Error Estándar) del queso prensa.

Variable	Periodo		Lluvias	Secas	P
	Semanas				
pH	1		5.61 \pm 0.01 ^c	5.72 \pm 0.01 ^a	0.0001
	3		5.77 \pm 0.01 ^b	5.53 \pm 0.01 ^b	0.0001
	6		5.92 \pm 0.01 ^a	5.57 \pm 0.01 ^b	0.0001
	12		5.50 \pm 0.01 ^d	5.31 \pm 0.02 ^c	0.0001

P: Probabilidad, ^{a, b, c}: Medias con diferente literal difieren estadísticamente (P \leq 0.05).

6.1.2. Color

Las medias de los cuadrados mínimos ($\bar{X} \pm EE$) para las características de color en los efectos de maduración para los distintos tratamientos son reportadas en la tabla (X), respectivamente.

La menor luminosidad (L^*) en lluvias y secas se presentó a las seis y doce semanas ($P < 0.05$), donde el queso de lluvias a doce semanas fue similar al de tres semanas, presentándose el valor más alto en lluvias y secas a una semana donde este fue similar a tres semanas. Existiendo diferencia significativa ($P < 0.05$) del anterior tratamiento por efecto de periodo.

La diferencia encontrada a las tres semanas por efecto de época está en relación a la composición de sólidos totales en la leche afectada por factores de manejo, genéticos, ambientales o nutricionales (Tornadijo *et al.* 1998, Zamora *et al.* 2011, Oca-Flores *et al.* 2019). Lo que en el producto puede generar una variación en la calidad influenciado por el tiempo de maduración y el efecto de temporada de la región quesera (Oliszewski *et al.* 2002), sumado a ello procesos fortuitos en la coagulación y coerción del prensado en el rendimiento quesero (Oca-Flores *et al.* 2019).

Por el contrario, Chacón-Villalobos & Pineda-Castro (2009) indican que a mayor tiempo de reposo menor luminosidad ($< 90 L^*$). Sin embargo, valores altos de L^* son asociados a una cuajada tierna con relación a la presencia elevada de humedad al principio de la maduración. Situación perceptible al queso recién elaborado como un producto más brillante y fresco.

Una percepción luminosa cercana al 100 (claridad) en alimentos lácteos es atribuida a una superficie lisa, densidad elevada y alta porosidad de la masa. Si un objeto es compacto y rugoso la capacidad de reflejar luz es alta, lo que permite proteger al contenido interno de la oxidación por iluminación (Ramírez-Nolla & Vélez-Ruiz 2012). Algunos componentes son sensibles a la presencia de luz, lo que origina que la corteza tenga un aspecto más oscuro (valor posicional a 1) que en su interior (Walstra *et al.* 2006); lo que, dicho de otro modo, a más brillo refleje un alimento,

mayor será su tonalidad (claridad) de color (Chacón-Villalobos & Pineda-Castro 2009).

El color de un alimento puede ser afectado por el tiempo de maduración y vida de anaquel presente un alimento (Ramírez-Rivera *et al.* 2017). Ramírez Nava *et al.* (2010) señala que, para el caso de los quesos, las coordenadas L*a*b* son influenciadas por las condiciones de conservación y la temperatura a la cual se realice la medición; pues, un queso madurado en condiciones templadas con baja humedad ambiental y evaluado en condiciones cercanas a 25°C y 85% H.R. liberara agua y grasa (Chacón-Villalobos & Pineda-Castro 2009). Lo que puede tener un efecto significativo sobre la luminosidad y preferencia de consumo (Cortes-Macías *et al.* 2016).

El parámetro intensidad al color rojo (a*) presento el menor valor (P<0.05) en lluvias durante la primera semana seguido de secas en la primera, tercera y doceava semana. Le precedieron valores en lluvias a las doce, tres y seis semanas; encontrándose el valor más alto en secas a las 6 semanas. Existiendo diferencia significativa (P<0.05) en tres y doce semanas por efecto de periodo.

La diferencia encontrada por temporada y tiempo de maduración de color rojo detectada por espectrofotometría puede ser atribuida principalmente a la presencia de microbiota con actividad proteolítica y lipolítica provocada por ciertas especies de levaduras (Borbolla-Sala *et al.* 2004, Carrero & López-Molinello 2012). Estas levaduras tienen acción en la formación de precursores de ácidos orgánicos con tonalidades rojo a verde (Díaz-Rivero *et al.* 2001).

Se ha encontrado evidencia que cepas del género *Candida* producen pigmentos rosados o rojos en quesos madurados, producto de la proteólisis de enzimas como la tirosinasa (Orbera-Raton 2004, Castro-Castillo *et al.* 2013). Alvarado-Rivas *et al.* 2007, Cristóbal & Torres (2003) mencionan que Bacterias Acido Lácticas (*Lactobacillus*, *Lactococcus* y *Leuconostoc*) y otras bacterias aerobias mesófilas (*Enterococcus*, *Escherichia*, *Staphylococcus*) inciden en la presencia de tonalidades pardas a oscuras derivado del metabolismo enzimático.

La expresión de estas tonalidades puede estar en relación con el incremento del pH, contenido de humedad y actividad de agua, afirmándose que, a mayor maduración, la concentración de carga microbiana incrementa la generación de estos atributos (Parra-Huertas 2010, Vázquez-Fontes *et al.* 2010, Martínez-López *et al.* 2016).

Stephan *et al.* 2001, El-Sayed *et al.* (2006) y Kalin *et al.* (2017) señalan que, si existe un número alto de células somáticas en la leche, este, es indicativo de la presencia de *Staphylococcus aureus* en la glándula mamaria bovina, dando origen a patologías como la mastitis clínica o subclínica; lo que puede originar la presencia de rastros de sangre o compuestos derivados, originando tonalidades de color rojo tanto en la materia prima como en el queso (Herrera & Santos 2015).

El uso de leche bronca con presencia elevada de bacterias degradativas (Linage *et al.* 2012, Zendejas-Manzo *et al.* 2014), incrementa el metabolismo de carbohidratos y proteínas presentes en la cuajada que perduran durante la maduración (Villegas 2012, Herrera & Santos 2015). Este proceso fermentativo puede dar origen a una glucosilación no oxidativa de los compuestos, lo que atribuye visiblemente a un oscurecimiento de los quesos de mayor reposo, así mismo otros fenómenos redox (oxidación de los ácidos grasos insaturados, principalmente) influyen en el incremento de estas tonalidades no visibles de color (Álvarez 2007, Santos 2007, Badui 2013).

Otros aspectos que pueden incrementar la tonalidad roja y que están en cuestión al proceso de elaboración artesanal; logran estar en función a los aditivos añadidos, como la sal marina refinada (presencia de metales pesados u algas marinas) (Ramírez-Navas *et al.* 2017), el abomaso como medio coagulante (presencia de sangre), el uso de prensas artesanales pintadas de madera, tinas de cuajado u otro material de prensado y recolección de leche (Grass-Ramírez & Cesín-Vargas 2014, Villegas *et al.* 2014). Lo anterior, pueden dar origen a trazas de elementos con pigmentos de tonalidad que tengan remanente en el queso y ser detectadas solo por espectrofotometría (Carrero & López-Molinello 2012).

La detección de a^*/b^* está en función de la concentración de nutrientes producto de la expresión genética bovina, alimentación y, por ende, del efecto estacional en la calidad de la leche utilizada para la elaboración de los quesos (Duran 2016, Ramírez-Rivera *et al.* 2019).

El parámetro intensidad al color amarillo (b^*) presentó el menor valor ($P < 0.05$) en lluvias a las doce semanas seguido de secas en la primera y doceava semana. Le continuó, valores de lluvias en la primera y tercera semana similares a los obtenidos en secas a tres semanas; presentándose la mayor intensidad a las seis semanas en ambos periodos. Existiendo diferencia significativa ($P < 0.05$) a las tres semanas por efecto de temporada.

La diferencia por efecto de la maduración y por periodo a las tres semanas de los valores del parámetro b^* presentan tonalidades visibles de color amarillo elevadas respecto a lo reportado por Gamboa-Alvarado *et al.* (2012) y Ramírez-Nolla & Vélez-Ruiz (2012) quienes evaluaron quesos madurados con semejante periodo de reposo encontrando valores de 17.8 a 21.6, pudiéndose explicar esta variación debido a la calidad de la leche utilizada rica en grasa (Tabla XI).

Autores como Chacón-Villalobos (2005), Etchevers *et al.* (2010), Beltrán *et al.* (2012) y O'Callaghan *et al.* (2017) adjudican el obtener quesos artesanales con tonalidades amarillas puede ser atribuible a la presencia de carotenos, xantofilas, flavonoides en leche, debido al uso de dietas ricas en forrajes verdes y alimentos ricos en pigmentos que incrementan su concentración en grasa de la materia prima. La grasa al contener vitaminas liposolubles como el tocoferol previenen la oxidación lipídica y evitan la rancidez hidrolítica lo que disminuye el pardeamiento enzimático a través del tiempo de maduración (Santos 2007, Beltrán *et al.* 2012, Badui 2013).

La intensidad amarilla visible por el reposo repercute en la elección de consumidores (Figura 6, Figura 8), que relacionan a un queso fresco como un producto blanquecino y brillante a su homónimo madurado como un alimento amarillo y opaco (Brown *et al.* 2003).

Evaluar las determinaciones a^* y b^* nos permite obtener otros valores como C^* y h° descritos por Mathias-Rettig & Ah-Hen (2014) para los criterios de calidad medible.

Los valores para saturación de color (C^*) indican una menor saturación ($P < 0.05$) en lluvias y secas a las doce semanas similar a la primera semana. Le precedieron valores en lluvias de la primer y tercer semana similares a los obtenidos en secas a tres semanas; presentándose la mayor pureza de color en dualidades épocas a las seis semanas. No presentado efecto estadístico ($P > 0.05$) la estación sobre el tiempo de maduración.

La pureza de color de acuerdo con $CIELC^*h^\circ$, determina que esta determinación puede medirse desde -60 hasta $60 h^\circ$. Valores altos encontrados en los quesos son relacionados a una alta luminosidad y humedad (Tabla XI); que va reduciéndose en la primera semana e incrementando la saturación conforme avanza la maduración.

Álvarez *et al.* (2007) relaciona que el croma (C^*) tiende a desarrollarse en las primeras semanas debido a un incremento en el contenido de proteína y grasa (Tabla XI) que ocasiona un pardeamiento no oxidativo conforme avanza la maduración. Purroy *et al.* (2005) señala que valores ligeramente altos de C^* en b^* repercuten en los consumidores, pues la saturación es relacionada principalmente a la maduración de los quesos.

Los valores para ángulo de tonalidad (h°) delimitan un menor matiz ($P < 0.05$) en lluvias a tres, doce y seis semanas similares a su homólogo de la época de estiaje. Las mayores tonalidades se presentaron durante la primera semana para equivalentes temporadas. Presentando diferencia significativa ($P < 0.05$) a las tres semanas por efecto de temporada.

Al no existir efecto de temporada sobre la maduración, el valor matiz fue afectado por la luminosidad (L^*) a tonos grises lo que es reforzado por la reacción de Maillard explicada en coordenadas a^* y b^* . De acuerdo con CIE (1976) el valor puede distribuirse desde 0° hasta 360° de tonalidad; los resultados obtenidos se encuentran cercanos al matiz amarillo ubicado en los 90° HIU (h°). Este valor fue

ligeramente decreciente después de la primera semana y atribuible a la oxidación de los ácidos grasos por el periodo de maduración (Lawlor *et al.* 2003).

Tabla V. Efecto de tiempo de maduración en el color (media \pm Error Estándar) del queso prensa.

Variable	Periodo		Lluvias	Secas	P
	Semanas				
Luminosidad	1		84.49 \pm 0.24 ^a	84.22 \pm 0.28 ^a	0.4729
	3		78.90 \pm 1.00 ^b	83.02 \pm 0.21 ^a	0.0001
	6		75.09 \pm 1.41 ^c	75.02 \pm 1.06 ^b	0.9667
	12		76.60 \pm 1.17 ^{bc}	76.57 \pm 0.54 ^b	0.9817
Intensidad al color rojo	1		1.28 \pm 0.11 ^b	1.43 \pm 0.06 ^b	0.2338
	3		2.88 \pm 0.36 ^a	1.77 \pm 0.11 ^b	0.0045
	6		2.89 \pm 0.30 ^a	3.50 \pm 0.26 ^a	0.1282
	12		2.35 \pm 0.23 ^a	1.80 \pm 0.10 ^b	0.0306
Intensidad al color amarillo	1		30.99 \pm 0.34 ^b	31.50 \pm 0.38 ^c	0.3246
	3		32.16 \pm 0.36 ^b	33.28 \pm 0.42 ^b	0.0446
	6		34.23 \pm 0.40 ^a	35.73 \pm 0.71 ^a	0.0676
	12		29.17 \pm 0.65 ^c	30.24 \pm 0.33 ^c	0.1416
Saturación o pureza del color	1		31.02 \pm 0.34 ^b	31.53 \pm 0.38 ^c	0.3272
	3		32.37 \pm 0.38 ^b	33.33 \pm 0.42 ^b	0.0950
	6		34.40 \pm 0.42 ^a	35.93 \pm 0.72 ^a	0.0707
	12		29.31 \pm 0.64 ^c	30.30 \pm 0.33 ^c	0.1715
Angulo o matiz de tonalidad	1		87.67 \pm 0.18 ^a	87.44 \pm 0.09 ^a	0.2359
	3		85.10 \pm 0.60 ^b	87.00 \pm 0.14 ^{ab}	0.0026
	6		85.35 \pm 0.45 ^b	84.72 \pm 0.35 ^c	0.2690
	12		85.11 \pm 0.51 ^b	86.59 \pm 0.18 ^b	0.0077

P: Probabilidad, ^{a, b, c}: Medias con diferente literal difieren estadísticamente (P \leq 0.05).

6.2. Determinación bromatológica

Las medias de los cuadrados mínimos ($\bar{X} \pm EE$) para las determinaciones bromatológicas de los efectos de maduración en los distintos tratamientos son reportadas en la Tabla XI.

La menor cantidad de Materia Seca (MS) se determinó en secas ($P < 0.05$) en la primera y tercera semana, le siguieron quesos de lluvias a una, tres y seis semanas; el anterior similar al su homólogo de secas. La mayor concentración de sólidos fue encontrada en quesos de mayor reposo para ambos periodos. Existiendo diferencia significativa ($P < 0.05$) en seis y doce semanas por efecto de periodo.

La diferencia detectada durante la maduración y por consiguiente el efecto periodo, es atribuible a que un queso elevado en extracto seco reduce la actividad de agua (A_w) lo que disminuye la actividad microbiana y protege el producto de la degradación enzimática en vitaminas, pigmentos, nutrientes y de factores externos como humedad relativa, luminosidad y temperatura (Badui 2013). Estas cualidades permiten al producto madurado, incrementar la vida de anaquel, no necesitando de hidratación o enfriamiento para conservarse (Badui 2006, Badui 2012).

Las propiedades de tener lácteos madurados altos en sólidos totales (contenido seco), permite reducir los costos de producción, inhibir el metabolismo bacteriano patógeno (*e. g. Escherichia coli, Staphylococcus aureus*) (Badui 2013) e incrementar la concentración de sustancias ácidas que influyen en el pH (Tabla IX) que dan valor nutritivo al queso (Teubner *et al.* 2009, Muñoz-Chávez 2010).

Santos (2007) y Villegas (2012) señalan que la maduración permite alterar las propiedades nutrimentales, especialmente el contenido de MS lo que da contexto a que mayores periodos de reposo el contenido de humedad (H) será inferior.

La menor presencia de Humedad (H) se encontró en secas ($P < 0.05$) a las doce semanas, seguido de seis semanas similar al obtenido en lluvias a doce semanas; encontrándose mayor contenido de agua en quesos de temprano reposo de una y tres semanas para ambos periodos. La diferencia significativa ($P < 0.05$) en seis y doce semanas por efecto de periodo.

La diferencia por efecto del tiempo y temporada se presentó en los valores de humedad clasificando al queso de acuerdo a la NOM-121-SSA1-1994 como quesos madurados cumpliendo con las especificaciones de calidad de la NMX-F-092-1970. La valoración internacional de calidad de Teubner *et al.* (2009) para contenido nutricional de quesos madurados señala que el queso cheddar, gouda, americano (Badui 2012), Blue Stilton y Parmesano (Astiasarán & Martínez 2003) cuentan con similitudes de agua semejantes a los meses de maduración y ligeramente inferiores a los reportados para queso blanco venezolano (Vázquez *et al.* 2012).

Los quesos mexicanos genuinos que comparten similitud por su proceso de elaboración artesanal prensado de leche cruda es el Chihuahua (Van-Hekken *et al.* 2007, Olson *et al.* 2011), tipo Manchego (Badui 2012) y Añejo de Zacazonapan (Hernández-Morales *et al.* 2010). Sin embargo, el tiempo no solo repercute en la maduración, sino que la materia prima empleada de diferentes especies animales, calidad, periodo y zona; lo anterior, influye en la composición nutricional durante el reposo (Peláez-Puerto *et al.* 2003, Hernández-Morales *et al.* 2011, Ramírez-Rivera *et al.* 2019).

Parte de la composición nutricional que excluye el contenido de agua y extracto seco por temperatura permite determinar minerales contenidos en el queso (Herman-Lara *et al.* 2019).

La determinación Cenizas (C) presentó diferencias significativas ($P < 0.05$) en su valor más bajo en ambos periodos durante la primera y tercera semana; encontrándose los valores más altos de tres a doce semanas. Se encontró diferencia significativa ($P < 0.05$) a una semana por efecto de periodo.

El contenido mineral fue diverso y se atribuye al efecto de maduración y de la época evaluada están dentro del parámetro reportado por la NMX-F-092-1970 y tablas de valor nutricional (Lupiañez-Barbero *et al.* 2018) para diversos quesos de origen europeo. Autores como Santos (2007), Teubner *et al.* (2009) y Villegas (2012) mencionan que los minerales que podrían integrar al queso destacan el calcio y el fósforo, aportando al consumidor hasta un 40% de las necesidades diarias de consumo.

El elemento sodio encontrando en los quesos podría ser superior al 1% (López-Guzmán *et al.* 2012, Van-Hekken *et al.* 2007) y aportar hasta el 95% de las necesidades de consumo diarias. Este elemento esencial (Herman-Lara *et al.* 2019), es agregado en el salado y no logra escapar durante el desuerado quedándose prensado en la cuajada y concentrándose en el madurado (López-Gómez & Madrid-Vicente 2003). Demás compuestos mayoritarios (K, Mg), esenciales (*v. g.* Co, Cu, Cr, Fe, Mn y Zn) y otros elementos pudieran formar parte de las cenizas encontradas en esta investigación (Herman-Lara *et al.* 2019).

Durante el reposo diversas reacciones microbiológicas no podrían ser posible sin la intervención de cofactores enzimáticos contenidos en forma de elementos minerales contenidos en Cenizas (Panizzolo *et al.* 2011, Murray *et al.* 2012, McSweeney 2017). El contenido de minerales obtenidos en esta investigación es similar al queso añejo (Hernández-Morales *et al.* 2010, Muñoz-Chávez 2014), Chihuahua (Van-Hekken *et al.* 2007, Olson *et al.* 2011), tipo Manchego (Badui 2012), Oaxaca (INCAP 2012) y otros quesos con distinción internacional como el Parmesano, Gouda, Camembert y americano reportados por INCAP (2012) y Muñoz-Chávez (2014).

Diversos autores mencionan que el tiempo de maduración afecta la concentración de minerales, sin embargo, la nutrición de los animales, en pastoreo o sobre

confinamiento, raza, especie son factores que influyen en los sólidos no grasos (sales minerales, proteínas e hidratos de carbono) de la materia prima quesera (Etchevers *et al.* 2010, Solís-Méndez *et al.* 2013, Durán 2016, Juárez-Barrientos *et al.* 2016, Ramírez-Rivera *et al.* 2019).

La determinación del contenido de Extracto Libre de Nitrógeno (ELN) o Carbohidratos Totales (CH) no presentó diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los diferentes tiempos de maduración para la temporada de lluvias, sin embargo, en secas la menor cantidad de hidratos de carbono fue a las doce semanas, seguido de una y seis semanas siendo este último similar a tres semanas de reposo. Existiendo diferencia significativa ($P < 0.05$) en tres y seis semanas por efecto de período.

Sin embargo, el queso que comparte similitud con las características bromatológicas a dos distintas épocas de elaboración por año es el queso Tepeque (Solís-Méndez *et al.* 2013). Otros quesos genuinos mexicanos que comparten similitud en el contenido de hidratos de carbono son: Queso panela (Ramírez-López & Vélez-Ruiz 2012), quesos de la región costa, selva y norte del estado de Chiapas (Rosado-Zarrabal *et al.* 2013).

Las características propias de la región de origen mejoran las condiciones nutricionales (Hernández-Briones *et al.* 2009), que presenta el queso prensa en esta variable de estudio, lo que variables como pH (Tabla IX), permiten comprender el por qué productos lácteos pueden madurarse por largos periodos (Solís-Méndez *et al.* 2013). La acidez presente en los quesos es debido principalmente a la presencia de ácido láctico producto de la fermentación de los carbohidratos principalmente la lactosa (Murray *et al.* 2012, McSweeney 2017). Otros productos de la fermentación lipolítica y proteolítica repercuten sobre la acidez.

La determinación Proteína (P) presentó diferencias significativas ($P < 0.05$), en el queso de secas a una semana el cual mostró menor contenido proteico, seguido de tres y seis semanas, el anterior similar a su homólogo de lluvias; el cual compartió similitud al queso de una semana y este último semejante al queso de tres y doce semanas, presentando el mayor contenido proteico en secas a doce semanas.

Existiendo diferencia significativa ($P < 0.05$) en una y tres semanas por efecto de temporada.

La variación en el tiempo de maduración producto de un cambio estacional, no es limitante para considerar que los resultados anteriores se encuentran dentro de las especificaciones fisicoquímicas de calidad determinadas en la NMX-F-092-1970.

Estos resultados son comprobados con los quesos del estado de Chiapas para la región Selva y Costa donde los valores de proteína son semejantes al tiempo evaluado (Rosado-Zarrabal *et al.* 2013). Otros quesos mexicanos que comparten similitud son los madurados de Tepeque de Michoacán (Solís-Méndez *et al.* 2013), Tenate (Caro *et al.* 2014), frescos como el Panela, Oaxaca, Blanco, de Aro (Ramírez-López & Vélez-Ruiz 2012), botanero y morral (Caro *et al.* 2014).

La proteína sufre variaciones de la primera a la sexta semana, esto puede ser explicado debido a que un porcentaje de la proteína nativa es hidrolizada por el proceso proteolítico de algunas bacterias fermentativas, el pH y temperatura de reposo (Villegas 2012, McSweeney 2017). El queso se caracterizó por contener buen contenido de proteínas desde la primera semana, incrementando su valor proteico conforme avanza la maduración (Pulido *et al.* 2018); resaltando que las proteínas presentes en el queso son principalmente caseínas y péptidos de alto valor biológico que alcanza su máximo valor a las doce semanas de maduración (Badui 2013).

Sin embargo, quesos como crema tropical de Chiapas (Romero-Castillo *et al.* 2009), Queso Chihuahua (Van-Hekken *et al.* 2007, Olson *et al.* 2011), Añejo de Zacazonapan (Hernández-Morales *et al.* 2011), Cotija de Michoacán (Villegas 2004) y el tipo Edam (Osorio *et al.* 2004) presentan porcentajes altos de proteínas durante la maduración. Estos valores difieren debido a la calidad de la leche en Solidos No Grasos (SNG) es referido al tipo de alimentación del ganado y heterogeneidad del proceso que se utilizó en cada caso de estudio para la elaboración de los quesos (Rosado-Zarrabal *et al.* 2013, Caro *et al.* 2014).

La determinación Grasa (G) para ambos periodos presentó diferencias significativas ($P < 0.05$), mostrando la menor cantidad de grasa una semana, seguido de quesos de tres y seis semanas, ostentándose el valor más alto a las doce semanas. Existiendo diferencia significativa ($P < 0.05$) para todos los tratamientos por efecto de temporada.

La influencia del tiempo de reposo determinada por cambios de periodo actúa incrementando el valor nutricional del queso prensa por consiguiente el lácteo cumple con la especificación de calidad para la determinación Grasa delimitada por la NMX-F-092-1970.

El queso genuino Tenate, tipo manchego (Caro *et al.* 2014), Añejo de Zacazonapan (Hernández-Morales *et al.* 2011), Chihuahua (Van-Hekken *et al.* 2007, Olson *et al.* 2011) de pasta hilada como el Asadero (Ibarra-Sánchez *et al.* 2017), comparten similitud al porcentaje de grasa de esta investigación.

Aunando, el contenido graso de los productos madurados contiene presencia de vitaminas lipolíticas, carotenoides y otros precursores oxidativos que garantizan una vida de anaquel superior a 90 días de maduración. Es en la maduración donde ocurren procesos de hidrolisis de grasa, siendo el factor determinante de la presencia de atributos sensoriales de color, sabor y aroma (Osorio-Tobón *et al.* 2004, Zamora *et al.* 2011).

La determinación grasa tiene una estrecha relación con la humedad en el queso, pues, a menor presencia de agua en el alimento mayor es la porción de materia grasa sobre el extracto seco restante (Pulido *et al.* 2018).

La determinación de Extracto Etéreo sobre Extracto Seco (EE/ES) presentó diferencia significativa ($P < 0.05$) entre los quesos más jóvenes al de mayor reposo, calculando el menor porcentaje de grasa en secas durante la primera semana, el anterior presentó similitud a su homólogo de lluvias, el cual compartió parecido en tres y seis semanas; seguido de valores altos en secas a las tres y seis semanas de reposo; encontrándose durante lluvias el mayor contenido lipídico por contenido

seco a las doce semanas. Existiendo diferencia significativa ($P < 0.05$) para todos los tratamientos por efecto de temporada.

El queso prensa se clasifica como Graso de acuerdo con el CODEX STAN 283-1978; los resultados obtenidos permitieron identificar al queso de interés con un contenido superior al $>50\%$ de materia grasa en el extracto seco. Es de resaltar que a medida que la humedad disminuye, el contenido de grasa y proteína se concentran lo que provoca un endurecimiento en el queso. Los quesos dominantes en contenido de EE/ES, permiten proveer mayor cantidad de energía por porción. Esta energía admite relacionar a los quesos madurados como alimentos nutritivos y de considerable valor calórico.

Las determinaciones Caloría (Cal) y su factor de conversión el Kilojoule (KJ) presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$); teniendo como menor valor energético el queso a una semana, similar al de seis semanas, y semejante este último al de tres semanas, presentándose a doce semanas la mayor capacidad energética para ambos periodos. Se encontró diferencia significativa ($P < 0.05$) en una, seis y doce semanas por efecto de temporada.

El contenido nutricional realizado es en base a los requerimientos de etiquetado para alimentos establecidos en la NOM-051-SCFI/SSA1-2010. Cualquier alimento que se comercialice bajo una entidad responsable, su producción debe procurar dar a conocer la mayor cantidad de información posible al consumidor (Villegas 2012). El contenido de energía en Cal o KJ debe ser en base al contenido nutricional (proteínas, carbohidratos y grasas) (Badui-Dergal 2013).

Los alimentos ricos en nutrientes y en contenido calórico deben regularse por el contenido en porciones por envase o presentación. Estos factores están relacionados a la actividad del consumidor y sus hábitos de alimentación (SCFI 2016). El queso es un alimento balanceado, rico en vitaminas, minerales, alto en aminoácidos esenciales y azúcares naturales de la leche (Teubner *et al.* 2009, Villegas *et al.* 2014). El incluir en una dieta sana porciones adecuadas de productos lácteos, puede alcanzar a satisfacer diversos requerimientos de energía y proteína dispensables para una correcta salud (Badui-Dergal 2006, Badui-Dergal 2012).

Tabla VI. Efecto del tiempo de maduración sobre la composición bromatológica (media \pm Error Estándar) del queso prensa por cada 100 g.

Variable	Periodo		Lluvias	Secas	P
	Semanas				
Materia seca	1		63.72 \pm 0.62 ^b	64.85 \pm 0.38 ^c	0.2639
	3		63.82 \pm 0.59 ^b	65.00 \pm 0.37 ^c	0.2323
	6		64.11 \pm 0.10 ^b	68.06 \pm 0.15 ^b	0.0021
	12		70.30 \pm 0.05 ^a	80.28 \pm 0.01 ^a	0.0001
Humedad	1		36.27 \pm 0.62 ^a	35.15 \pm 0.38 ^a	0.2639
	3		36.18 \pm 0.59 ^a	35.00 \pm 0.37 ^a	0.2323
	6		35.89 \pm 0.10 ^a	31.94 \pm 0.15 ^b	0.0021
	12		29.70 \pm 0.05 ^b	19.72 \pm 0.01 ^c	0.0001
Cenizas	1		4.38 \pm 0.03 ^b	3.69 \pm 0.09 ^b	0.0184
	3		4.70 \pm 0.07 ^{ab}	4.15 \pm 0.23 ^{ab}	0.1494
	6		4.78 \pm 0.08 ^a	4.63 \pm 0.01 ^a	0.2202
	12		4.87 \pm 0.02 ^a	4.79 \pm 0.04 ^a	0.2155
Extracto Libre de Nitrógeno	1		6.90 \pm 1.10 ^a	11.30 \pm 0.87 ^b	0.0883
	3		3.60 \pm 0.72 ^a	18.62 \pm 1.30 ^a	0.0096
	6		6.53 \pm 0.22 ^a	14.76 \pm 0.05 ^{ab}	0.0008
	12		3.17 \pm 0.49 ^a	4.09 \pm 0.42 ^c	0.2901
Proteína	1		20.51 \pm 0.27 ^{ab}	15.57 \pm 0.25 ^c	0.0055
	3		21.60 \pm 0.27 ^a	18.61 \pm 0.06 ^b	0.0084
	6		19.28 \pm 0.20 ^b	19.23 \pm 0.22 ^b	0.8949
	12		22.30 \pm 0.60 ^a	25.21 \pm 0.17 ^a	0.0430
Grasa	1		31.93 \pm 0.23 ^c	21.74 \pm 0.23 ^c	0.0010
	3		33.91 \pm 0.06 ^b	25.86 \pm 0.73 ^b	0.0082
	6		33.51 \pm 0.23 ^b	27.01 \pm 0.48 ^b	0.0067
	12		39.96 \pm 0.14 ^a	34.64 \pm 0.26 ^a	0.0032
Extracto etéreo sobre extracto seco	1		50.12 \pm 0.86 ^b	33.52 \pm 0.16 ^b	0.0028
	3		53.14 \pm 0.38 ^b	39.79 \pm 1.35 ^a	0.0109
	6		52.28 \pm 0.45 ^b	39.68 \pm 0.61 ^a	0.0036
	12		56.84 \pm 0.16 ^a	43.15 \pm 0.33 ^a	0.0007
Calorías	1		397.05 \pm 1.20 ^c	303.14 \pm 2.41 ^c	0.0008
	3		406.05 \pm 2.40 ^b	381.70 \pm 11.97 ^b	0.1842
	6		404.87 \pm 0.43 ^{bc}	379.07 \pm 3.22 ^b	0.0155
	12		461.52 \pm 0.82 ^a	429.03 \pm 4.76 ^a	0.0214
Kilojoules	1		1661.28 \pm 5.04 ^c	1268.34 \pm 10.08 ^c	0.0008
	3		1698.94 \pm 10.06 ^b	1597.04 \pm 50.08 ^b	0.1842
	6		1694 \pm 1.82 ^{bc}	1586.03 \pm 13.47 ^b	0.0155
	12		1931 \pm 3.43 ^a	1795.04 \pm 19.94 ^a	0.0214

P: Probabilidad, ^{a, b, c}: Medias con diferente literal difieren estadísticamente (P \leq 0.05).

6.3. Análisis microbiológico

Se logró estandarizar el protocolo para DGGE y la PCR múltiple para la identificación bacteriana en quesos madurados.



Figura 4. Rallado de muestras y extracción de gel de agarosa al 0.4%

6.3.1. Electroforesis del DNA extraído

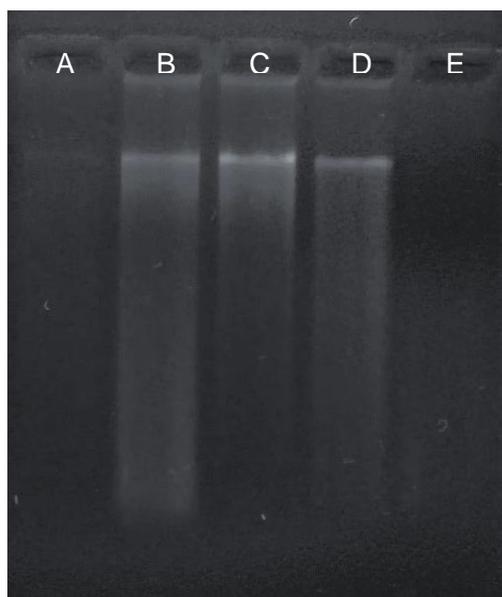


Figura 5. ADN extraído en el transiluminador; Gel de agarosa al 0.08%. Maduraciones: A. Ceba *Staphylococcus aureus*, B. 12 semanas, C. 6 semanas, D. 3 semanas, E: 1 semana.

6.3.2. Perfil de poblaciones microbianas mediante el análisis de electroforesis en gel de gradiente desnaturalizante (DGGE)

Los resultados obtenidos del DGGE mostraron un perfil de 17 bandas o filotipos (Figura 6).

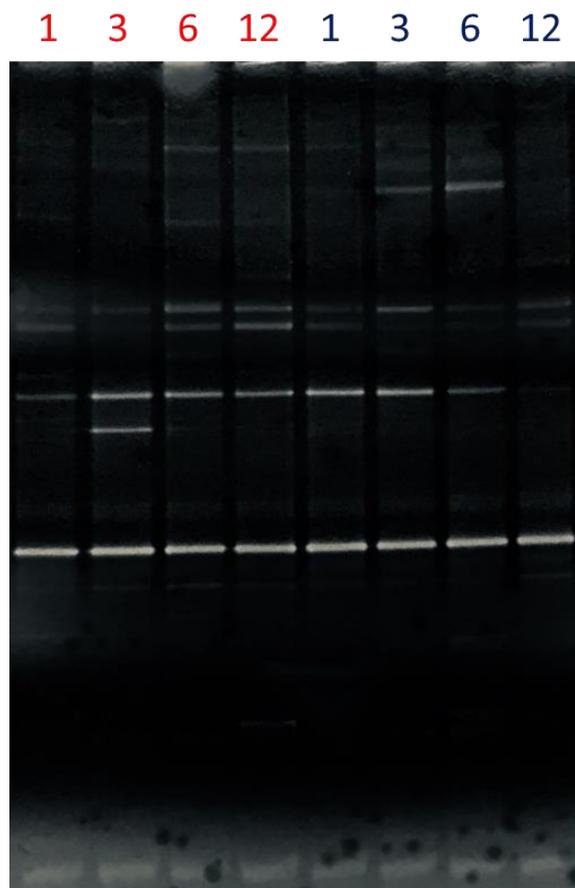


Figura 6. Perfil DGGE de amplicones de la región V3 del gen ARNr 16S en bacterias. De izquierda a derecha la temporada de rojo secas y azul: lluvias; n° en semanas de reposo.

El dendrograma de vecino más cercano (NJ) en la Figura 7, agrupó los patrones de bandedo obtenidos en 3 lados hermanos interrelacionados, registrando una distancia máxima de 0.318; el cual, muestra diferencias entre el tiempo de maduración de los quesos por efecto de temporada de lluvias y secas. El método por vecino cercano permitió identificar a los quesos de lluvias con dos similitudes (número e intensidad de banda): la encontrada entre doce y seis semanas y la presente entre una y tres semanas. La aplicación de NJ también permitió agrupar a los quesos de secas en

tres conjuntos: el primer conjunto de una semana cercano al segundo conjunto a tres semanas y con similitudes de banda al tercer conjunto de doce y seis semanas.

El método (NJ) por representación gráfica de diagrama permite organizar los datos obtenidos en la Tabla VII. Esta clasificación permite agrupar tratamientos con similitudes de intensidad y comportamiento de banda (Bou *et al.* 2011). Los clústeres generados tanto en secas como en lluvias permiten revalidar la diferencia existente entre cepas por efecto de la temporada y maduración.

Dicho de otro modo, el conglomerado de cepas en lluvias es más homogéneo que el de secas, lo cual, es reafirmado por el comportamiento para cepas de *Staphylococcus aureus* reportado en la Figura 10. Las tres subcategorías identificadas en secas permiten relacionar el comportamiento encontrado, debido a un cambio en la composición nutricional del queso evidenciado en la Tabla VI, específicamente en extracto seco y a una diferenciación del consumidor de la Figura 12 con tendencia a preferir quesos con estadios más tempranos de reposo (Romero-Castillo *et al.* 2009, Granados *et al.* 2010, Rosado-Zarrabal *et al.* 2013).

Aunado, la microbiota encontrada en secas, efectúa cambios sobre los valores altos de carbohidratos totales reportados en la Tabla VI, lo que da origen a especies bacterianas ácido lácticas mencionadas en la Tabla II. Seguidamente la Figura 10 del PCR múltiple para determinar la presencia de *Staphylococcus*, corrobora el comportamiento de secas en la triple agrupación de la Figura 7, lo que indica que en el periodo de secas la aparición de tres cepas distintas hace alusión a la disponibilidad de nutrientes en el queso por efecto del cambio estacional, originado a su vez por la variación en la alimentación del animal (Espinosa *et al.* 2008, Etchevers *et al.* 2010, Zamora *et al.* 2011, Durán 2016).

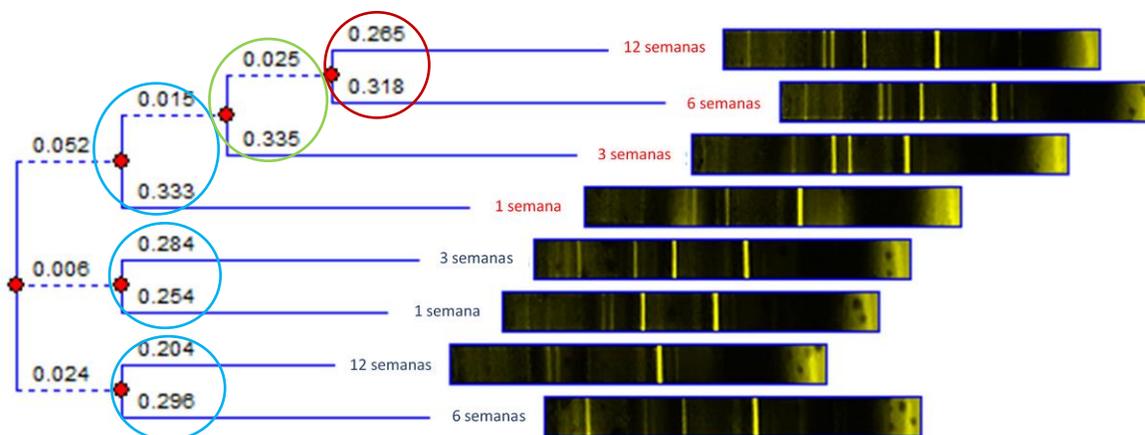


Figura 7. Dendrograma construido mediante el método del vecino más cercano (NJ) mediante el programa TL120 mostrándose en color rojo la temporada de secas, color azul lluvias.

La riqueza de filotipos bacterianos en OTUs (S), reveló cuatro filotipos distintas en la primera semana de secas sobre su homólogo de lluvias y un valor de Shannon-Weaver (H') similar (Tabla VII). A las tres semanas el producto de lluvias tuvo tres filotipos distintos, superior a su equivalente a secas y una abundancia menor (secas). El número de filotipos y abundancia encontradas a las seis semanas de lluvias presentó la mayor diversidad de especies con cuatro bandas más sobre su homólogo de secas. En cuanto al tratamiento con mayor reposo el número de especies fue similar y la abundancia de los individuos fue mayor en época de secas.

Tabla VII. Datos de índices ecológicos para la comunidad bacteriana asociada a la maduración de quesos.

Índice \ Semana	Secas				Lluvias			
	1	3	6	12	1	3	6	12
S	16	11	13	11	12	14	17	11
H'	2.205	1.987	2.152	2.012	2.073	2.226	2.3	1.95

Riqueza de Filotipos (OTUs) (S) e índices de diversidad de Shannon (H').

La prueba t de Hutcheson (Magurran 1998) determinó que hay diferencia significativa entre la diversidad bacteriana por temporada (lluvias y secas) pertenecientes a 1 semana de maduración ($t=194.39$, $g.l.= 6.82423 \times 10^6$, $p=0$), 3 semanas ($t=-367.88$, $g.l.= 6.8127 \times 10^6$, $p=0$), 6 semanas ($t=-203.63$, $g.l.= 6.4406 \times 10^6$, $p=0$) y 12 semanas ($t=82.499$, $g.l.= 5.1893 \times 10^6$, $p=0$).

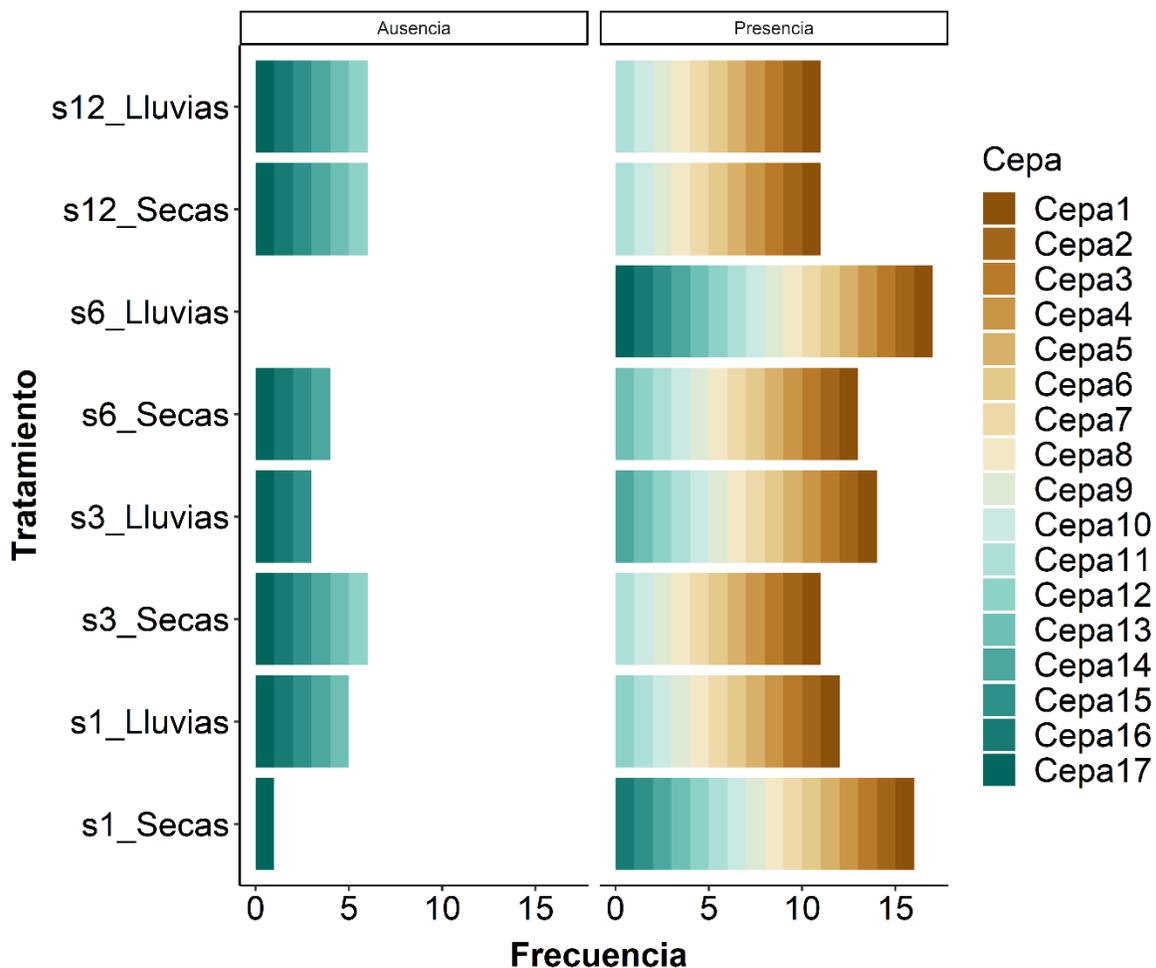


Figura 8. Gráfico de frecuencias clasificando presencia o ausencia bacteriana por efecto de tratamiento y periodo.

De manera general encontramos una comunidad bacteriana cambiante durante la maduración y afectada por factores entre los que destaca la época del año. Empero, el comportamiento es similar al de número de cepas encontradas en secas a tres y doce semanas y de lluvias a las doce semanas, lo cual, difiere en su abundancia respectivamente.

A lo anterior, estas diferencias en el número de individuos y por ende en su abundancia es antecedido por una cambiante composición bromatológica (Véase Tabla VI) en determinaciones de cenizas, proteína, grasa y principalmente humedad (Teubner *et al.* 2009, Romero-Castillo *et al.* 2009, Badui 2013, Rosado-Zarrabal *et al.* 2013). El agua es el elemento que influye en el metabolismo microbiológico - enzimático condición *sine qua non* quesos de menor tiempo de maduración son aceptados con mayor fiabilidad (Véase Figura 12) (Chamorro & Losada 2002, López-Gómez & Madrid-Vicente 2003). Aunque este elemento y otros componentes suelen estar mayoritariamente en la leche, la calidad y cantidad disponible puede estar en función de la alimentación del animal, elaboración, maduración y ser determinantes de la abundancia y diversidad bacteriana (López-Gómez & Madrid-Vicente 2003, Santos 2007, Solís-Méndez *et al.* 2012, Villegas 2012).

La maduración da origen al desarrollo bacteriano, el cual otorga diferencias en las condiciones fisicoquímicas de espectrofotometría (Tabla V) y de distinción al consumidor (Figura 12), principalmente en quesos de mayor reposo (seis y doce semanas) tanto en tonalidad de color amarillo pardo a sensometría de preferencia en tacto, textura, aroma y color (Figura 13).

Algunas especies bacterianas nativas del queso siguen prevaleciendo y otras desaparecen producto de interacciones con otras especies, cantidad de sustrato disponible, acidez, temperatura, humedad y luminosidad de almacenamiento en donde la cantidad de individuos es fluctuante (Badui 2013, Rodríguez-Pacheco *et al.* 2016, Herendida-Castro *et al.* 2017). Tal como sucede con los quesos de secas a una y seis semanas, seguido de lluvias en una, tres y seis semanas, siendo este último el producto con mayor riqueza bacteriana. El comportamiento se reafirma en la Figura 10, donde las cepas de *Staphylococcus* es cambiante en los mismos tiempos por efecto de la temporada (Díaz-Rivero & Gonzales-García 2001).

Pese a que diversas cepas como las señaladas en la Tabla II, pueden crecer, multiplicarse y metabolizar diversos compuestos, en su mayoría suelen ser organismos benéficos que otorgan: atributos sensoriales como sabor, aroma, textura principalmente, inhiben el desarrollo de bacterias deterioradoras o patógenas, responsables de compuestos antimicrobianos como ácidos orgánicos,

gases como CO₂ (productores de “ojos” en los quesos), bacteriocinas e incremento del valor nutricional al aumentar la digestibilidad (Chamorro & Losada 2002, Rosa-Moreno & Bernadette 2002, González-Martínez *et al.* 2003, López-Gómez & Madrid-Vicente 2003, Parra-Huertas 2010, Martínez-López *et al.* 2016).

El encontrar determinada cantidad de cepas y abundancia de estas en diferente intervalo por efecto de la maduración y/o época nos permite afirmar que la microbiota influye en la maduración del queso (Nobak *et al.* 2013). Los microorganismos presentes en este estudio permiten dar explicación a bacterias autóctonas conocidas como las bacterias lácticas iniciadoras o SLAB (Started Lactic Acid Bacteria) (López-Gómez & Madrid-Vicente 2003).

El primer grupo suele aparecer desde la ordeña, durante el proceso de elaboración y contribuir a la maduración mediante la producción de ácido láctico y/o de enzimas proteolíticas dando lugar a compuestos de sabor (Acevedo *et al.* 2012, Parra-Huertas 2010). Frecuentemente las SLAB integran bacterias del género: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y *Enterococcus* (Rosa-Moreno & Bernadette 2002, Acevedo *et al.* 2012).

Sin embargo, se ha demostrado que su presencia como microbiota láctica, desarrolla metabolitos secundarios que inhibe el desarrollo o abundancia de patógenos como *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *Clostridium spp.*, *Escherichia coli* o *Vibrio Cholerae* por la producción de bacteriocinas (Cristobal & Maurtua 2003, Borbolla-Sala *et al.* 2004, Nobak *et al.* 2013, Rodríguez-Pacheco *et al.* 2016, Heredia-Castro *et al.* 2017).

De manera general, las bacterias nativas de la leche bronca y *a posteriori* al queso fresco o madurado tienen presencia de microbiota secundaria, siendo común en quesos con Denominación de Origen Protegida (Cristobal & Maurtua 2003, Teubner *et al.* 2009, Nobak *et al.* 2013, Villegas *et al.* 2014, Guzmán-Estremadoyro *et al.* 2015). Así también, diversos estudios han demostrado que un determinado número de bacterias sobreviven a procesos de pasteurización y suelen aparecer durante la maduración, por lo que la contaminación puede o no originarse en el proceso de elaboración (Santos 2007, Villegas 2012).

Por ello, es importante mantener la inocuidad respetando los límites bacterianos tanto en la producción láctea artesanal o industrial señalada en la Tabla I y poder hacer uso de leche no pasteurizada es importante el apego a las especificaciones sanitarias establecidas en la NOM-243-SSA1-2010, estableciendo un HACCP como lo marca la NOM-251-SSA1-2009 y cumpliendo valores microbiológicos delimitados por la NOM-121-SSA1-1994.

El ACM representó un 10% de la varianza total de las variables: Bandas, Respuesta y Tratamientos (Semana-Periodo). La Figura 9 recuadro izquierdo muestra en el espacio una diversidad bacteriana, encontrándose coexistencia de un número determinado de filotipos en los quesos.

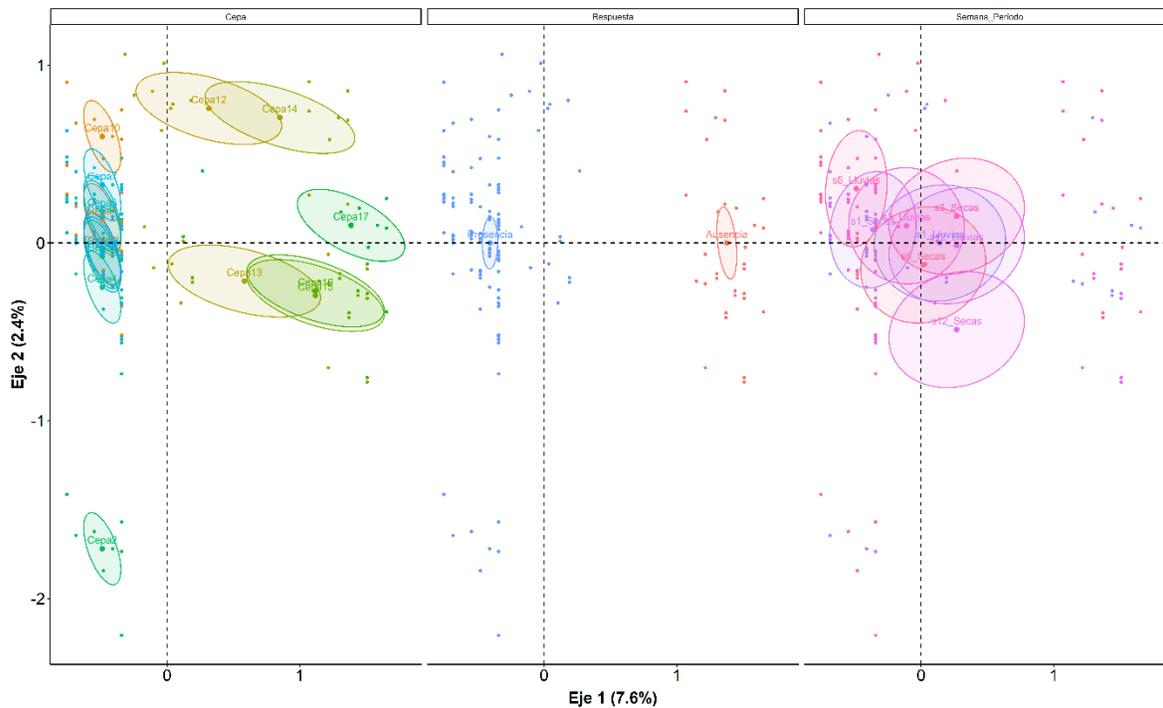


Figura 9. Análisis de correspondencia múltiple (ACM) para presencia o ausencia de bacterias.

Posteriormente el gráfico central se infiere un comportamiento diferenciable por presencia y ausencia bacteriana. Ya que, el queso analizado es elaborado bajo técnicas artesanales como la nula pasteurización, es preciso indicar que la microbiota nativa de la leche está presente durante la maduración y aunque pudiese ser que otras cepas se integraran durante la maduración por contaminación cruzada o ambiental se necesitarían estudios de aislamiento e identificación de las bacterias que intervienen en el reposo del queso (Reséndiz *et al.* 2012, Pires *et al.* 2019). La presencia de microbiota generalmente bacterias ácido lácticas impiden el crecimiento de otros microorganismos patógenos como hongos que inciden en las

propiedades y tiempo de comercialización del producto (Cristóbal & Maurtua 2003, Ramos-Izquierdo *et al.* 2009).

Sin embargo, el gráfico derecho delimita que, aunque el análisis filogenético arrojó diferencias en la cantidad de cepas encontradas durante la maduración, el comportamiento de los tratamientos por efecto de temporada (lluvias y secas) y periodo de maduración (semana 1, semana 3, semana 6 y semana 12) fue similar. Dicho de otro modo, el gráfico muestra nula diferencia, producto de la diversidad bacteriana entre las semanas de maduración. El comportamiento de cepas encontradas por periodo radica principalmente en que el proceso de elaboración, los animales y el manejo fue el mismo. Aunque, Villegas (2012) y Santos (2007) hacen mención que cambios de temperatura y humedad relativa efectúan cambios en la inocuidad del producto. Otros autores hacen mención que cambios en la dieta, calidad y cantidad de agua ofrecidos al animal son factores determinantes en el valor nutricional y microbiología quesera (Etchevers *et al.* 2010, Navas 2016, Ramírez-López & Vélez-Ruiz 2016).

De manera general, el diagrama de elipses de confianza indica que no hubo distinción de entre los tratamientos, sin embargo, algunas de las cepas estuvieron relacionadas con presencia, del uno al 12, mientras que otras, 13 a 17 con ausencia. De este modo, algunas cepas tuvieron más afinidad con ciertos tratamientos, pero estadísticamente no se diferenciaron.

6.3.3. Evaluación de la presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos artesanales maduros

Se logró estandarizar la PCR múltiple para la identificación de *Staphylococcus aureus* utilizando iniciadores en la región 23S rRNA con genes *StaphyF* y *StaphyR*, *Staphylococcus* aglutinante con genes *clfA* y *clfAR* (Stephan *et al.* 2001, El-Sayed *et al.* 2006) y oligonucleótidos para *Staphylococcus coagulasa* con genes *CoaF* y *CoaR* (Hookey *et al.* 1998, El-Sayed *et al.* 2006) de ADN extraído a quesos con presencia de microbiota por bacteriología tradicional como se muestra en la Figura 10.

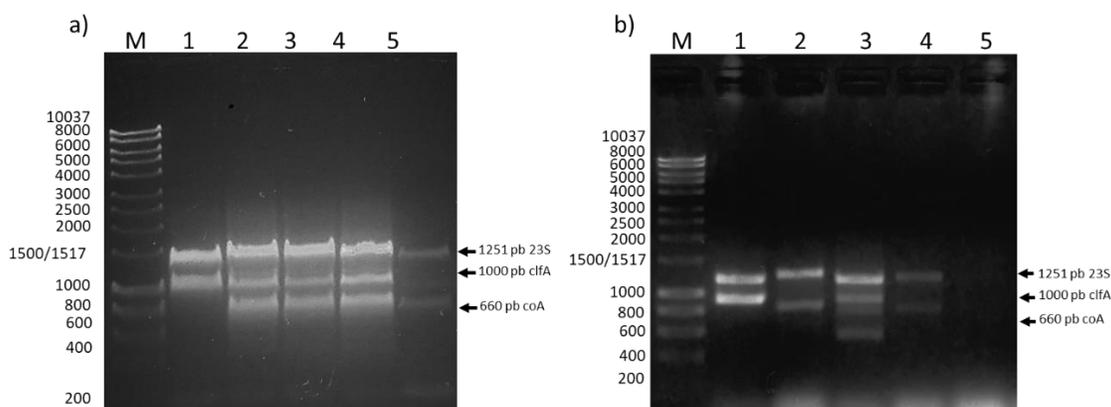


Figura 10. Productos PCR de los quesos artesanales a diferentes temporadas y tiempos de maduración. a) lluvias y b) secas para *S. aureus*. Gel de agarosa al 1%. M marcador Hyperladder 1 Kb, 1) Cepa de referencia, 2) 12 semanas, 3) 6 semanas, 4) 3 semanas, 5) 1 semana. Factor aglutinante (*clfA*), coagulasa (*coA*), 23S RNAr.

El diagnóstico para *Staphylococcus* se hizo en presencia de cepa de referencia, en la cual se analizaron un total de ocho muestras de quesos madurados en dos fases de tiempo (Pérez *et al.* 2008, Ruiz-Romero *et al.* 2013). De manera general, el gel a y b amplificó en la región 23S en todos los tratamientos (87.2%) a excepción de la semana uno en secas, seguido de *clfA* (1000 pb) y *coA* (660 pb) con cinco tratamientos positivos (65%) y *clfA* (900 pb) con dos tratamientos positivos (25%). La identificación del género *Staphylococcus* se debió a los iniciadores para la región 23S RNAr que corresponde a una subunidad menor ribosomal (Phuektes *et al.* 2001). Estos genes son característicos entre los *Staphylococcus spp.* y son únicos en comparación con otras eubacterias (Mosbah *et al.* 2005, Sayari *et al.* 2001). Para

la identificación específica fueron utilizados cebadores para el gen *clfA* y *coA*; aunque otras especies de *Staphylococcus* son capaces de producir coagulasa libre o unida, estos son de utilidad en la identificación de *Staphylococcus aureus* (Xu *et al.* 2012). La utilización de la PCR múltiple en este estudio permitió identificar tres secuencias de banda con diferentes pares de bases, esta metodología reportada por varios autores permite ahorrar tiempo, costos de aplicación, diagnóstico de múltiples serovariedades microbianas presentes en los alimentos y de aplicación en la salud pública (Phuektes *et al.* 2001, Méndez-Álvarez & Pérez-Roth 2004, Pérez *et al.* 2008, Gao *et al.* 2011, Palomino-Camargo & González-Muñoz 2014).

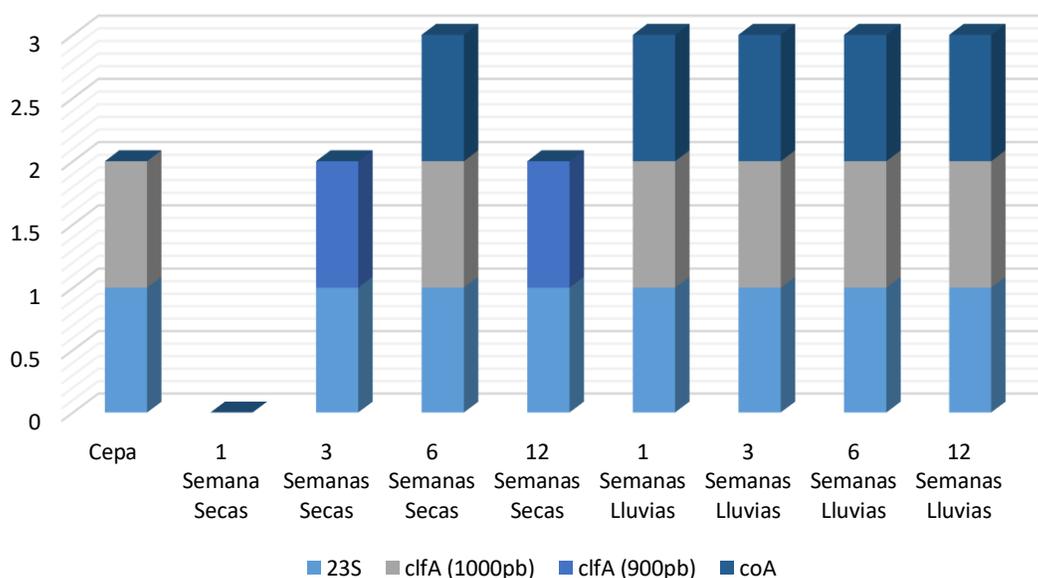


Figura 11. Caracterización genotípica de aislados de *S. aureus* de los quesos artesanales en dos temporadas y tiempos de maduración.

El gen *clfA* presenta polimorfismo genético en temporada de secas a 3 y 12 semanas de maduración y el gen *coA* solo estuvo presente en el queso de 6 semanas de maduración.

La variación genética encontrada en los quesos del periodo de secas en 3, 6 y 12 semanas es debido, al efecto que ejerce la maduración sobre las cepas. La pérdida de agua determinada en la Tabla VI (bromatología) y la adaptación a ambientes con pH ácidos (Véase Tabla IV) pudo haber sido un causal de la identificación de

múltiples alelos de una cepa bacteriana producto de la maduración (Martin *et al.* 2008, Milena-Vásquez *et al.* 2009).

Así también, la preferencia de los consumidores se ve afectada por la actividad microbiana, pues el metabolismo de estas incide en la generación de ciertos atributos de poco agrado al consumidor local resultando en la poca preferencia y aceptación de quesos madurados (Martínez-López *et al.* 2016, Narváez-Guillén *et al.* 2017).

Sin embargo, quesos en la época de secas a 12 semanas tuvieron una actitud de compra aceptable sobre su homólogo a seis semanas, debido a que algunas bacterias proteolíticas degradan compuestos (catálisis enzimática) que inciden sobre la aparición aislada de tonalidades de color oscura (“Browning” no enzimático) principalmente en la corteza del queso (biopelículas de superficie), lo que provoca una mejora en la actitud de compra (Navia *et al.* 2010, Mejía-López *et al.* 2017). Aunado la presencia de polimorfismo bacteriano y demás microbiota permiten en el alimento obtener una calidad nutricional diversa y preservación alimenticia (Vásquez *et al.* 2009).

6.4. Evaluación sensorial

6.4.1. Estudio de consumidores

6.4.1.1. Preferencia, aceptación y actitud de compra

Los resultados del ANVA determinaron que existen diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en el resultado de preferencia, aceptación y actitud de compra de los consumidores. Los quesos con menor favoritismo en el índice de preferencia fueron a doce y seis semanas de reposo, seguido del queso a tres semanas, siendo el producto a una semana de elaboración con mayor distinción de consumo.

Por otro lado, los resultados de aceptación indicaron que los quesos de mayor tolerancia de consumo fueron a seis y doce semanas, seguido del queso a tres semanas, siendo el producto a una semana de elaboración con mayor aprobación de consumo. Sin embargo, los indicadores de actitud de compra evidenciaron que el queso con menor agrado fue el de seis semanas, seguido de doce semanas de elaboración, siendo el queso a tres semanas y una semana los lácteos de mayor gusto y tendencia de compra local (Ramos-Gabriel *et al.* 2019ab).

El comportamiento obtenido con tendencia hacia quesos de menor tiempo de reposo está en relación, a que el consumidor local está poco relacionado con el consumo de quesos madurados (Brown *et al.* 2003, Ramírez-Rivera *et al.* 2017b, Ramírez-Nolla & Vélez-Ruiz 2012). Sin embargo, la preferencia en la degustación está relacionado a nutrientes metabolizados por la microbiota, los cuales, generan diversos compuestos que son motivo de atracción o rechazo al momento del catado (Alvarado-Rivas *et al.* 2007, Badui-Dergal 2012, Martín *et al.* 2008 Badui-Dergal 2013, Gonzales-Montiel & Franco-Fernández 2015). Pese a que los catadores pueden preferir un producto más que otro, esto es un buen indicador de predicción del grado de aceptación de un queso por atributos perceptibles a través de la maduración (Ramos-Gabriel *et al.* 2019a).

En síntesis, la preferencia y aceptación son herramientas que influyen en la actitud de compra (Ramírez-Navas 2012). La información generada nos permite entender de manera global que el consumidor local logra clasificar en dos segmentos al

queso. Por una parte, un queso de una a tres semanas como un producto oreado con predicción de preferencia y por otra vertiente un queso de seis a doce semanas como un madurado con poca aceptación y afinidad de consumo (Ramos-Gabriel *et al.* 2019b).

La relación que ejercen ambas ayudan al consumidor a evaluar la calidad y decidirse sobre un producto específico, ejerciendo dominio las cualidades del queso al consumirse (Véase Figura 12) (Mondino & Ferratto 2006). Lo anterior, es reafirmado por el comportamiento encontrado a las 6 semanas donde las pruebas cualitativas de consumo revelan un desacuerdo por el producto, posiblemente relacionado con la riqueza microbiana y el contenido de materia seca del producto (Oliveira *et al.* 2012, O’Callaghan *et al.* 2017, Ramos-Gabriel *et al.* 2019b).

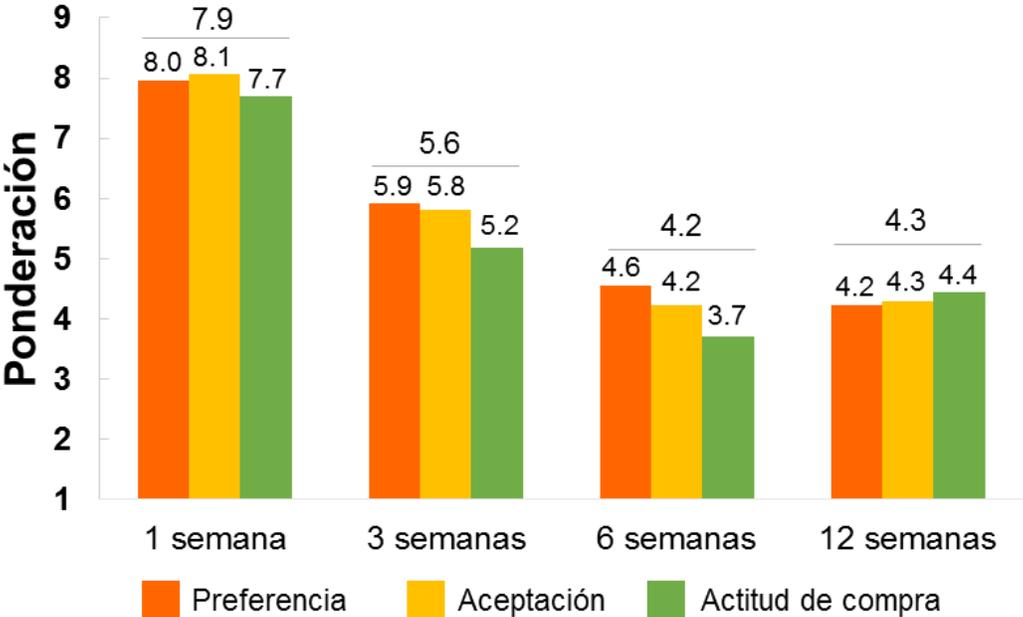


Figura 12. Gráfico comparativo de pruebas cualitativas para consumidores.

6.4.2. Análisis de consumidor

La media del comportamiento evaluado para los distintos atributos por queso presentó diferencias; los consumidores encontraron diferencia entre los descriptores propuestos y las respuestas por tratamiento fueron discriminantes.

El queso de una semana (QT1) de reposo fue evaluado dentro del parámetro “me gusta” para los atributos presentados. El queso a tres semanas (QT2) fue evaluado de manera general dentro de la escala “me gusta ligeramente”. Los quesos a seis (QT3) y doce semanas (QT4) se clasificaron como quesos indiferentes al consumidor con valores de “ni me gusta ni me disgusta”.

Los catadores lograron diferenciar cada queso por cada descriptor evaluado. Agrupándose los valores obtenidos como: queso oreado (una semana), reposado (tres semanas) y madurado (seis y doce semanas). El queso a de una semana fue aceptado con gran margen en todos los atributos diferenciándose de su homologo a tres semanas de maduración. Los productos con maduración a seis y doce semanas comparten similitud en color, tacto, aroma y resabio; encontrando discrepancia olor y textura, atributos diferenciados por el efecto bacteriano sobre la composición bromatológica (Delgado *et al.* 2011, Hernández-Morales *et al.* 2011, Oliveira *et al.* 2012, Miloradovic *et al.* 2017, Ramírez-Rivera *et al.* 2017ab).

El tiempo de maduración ejerce una acción bioquímica sobre ciertos compuestos liberados por la microbiota bacteriana del queso, lo cual, puede dar origen a ciertos descriptores favorables como lo es el color, el aroma y el resabio (Hayaloglu *et al.* 2013, Drake & Delahunty 2017, Ramos-Gabriel *et al.* 2019a). De manera general, la intensidad organoléptica se ve afectada por el tiempo de reposo siendo la causal en dominancia de atributos la diversidad y abundancia bacteriana (Ramos-Gabriel *et al.* 2019b).

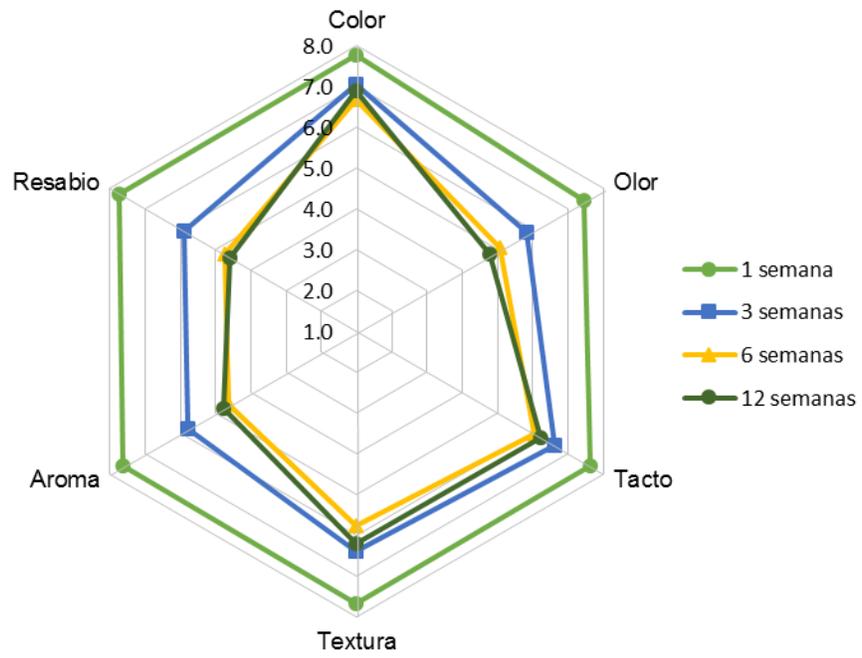


Figura 13. Gráfico radial de la media por atributos por tiempo de maduración.

7. CONCLUSIÓN

Los resultados de esta investigación indican que el intervalo de acidez presente en los quesos fue de 5.3 a 5.9, valor aceptable para criterios de calidad normativa. Los quesos de secas presentan una mayor luminosidad en tonalidades de color amarillo sobre sus homólogos de lluvias; por ende, la calidad nutricional del queso madurado permitió caracterizar al producto rico en proteínas, grasas y cenizas.

La riqueza y diversidad bacteriana encontrada en los productos de lluvias tuvo efecto sobre la composición bromatología y análisis sensorial. La presencia de *Staphylococcus aureus* durante la maduración por efecto de temporada difiere de la cepa control (patógena).

La presencia de microbiota, promueve la maduración hasta por doce semanas otorgando atributos sensoriales de preferencia al consumidor local. El consumidor distinguió la maduración por efecto de temporada teniendo agrado por quesos a una y tres semanas.

La presente investigación permitió conocer las propiedades cuantitativas y descriptivas del queso a través de una tipificación. El queso evaluado cumple criterios normativos, lo cual servirá de soporte para gestionar una denominación de origen o marca colectiva por parte de los productores.

8. RECOMENDACIONES GENERALES

El principal problema que enfrentan los alimentos artesanales es la falta de conocimientos en seguridad e inocuidad alimentaria por lo cual se recomienda:

- 1) Evaluar el efecto de la maduración prolongada a fin de determinar hasta qué punto su vida de anaquel es apto para consumo.
- 2) Aplicar estudios de aislamiento, identificación, caracterización bioquímica y molecular de cepas bacterianas benéficas durante la maduración.
- 3) Comunicar a los productores la importancia de hacer vinculación para obtener una denominación de origen.
- 4) Realizar un estudio de mercado el cual permita definir el impacto socioeconómico que tiene el queso prensa en la región.
- 5) Caracterización sensométrica aplicada por un panel entrenado que permita identificar al queso con atributos descriptivos al consumidor.

9. LITERATURA CITADA

- Acevedo, D., L. E. Guzmán & A. Rodríguez. 2012. Cultivo iniciador para la producción de suero costeño. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial* 10: 16-20.
- Aguilar-Uscanga, B. R., M. Montero-Lagunes, J. Cruz, J. R. Solís-Pacheco & H. S. García. 2006. Uso de suero fermentado para reducir el tiempo de acidificación del queso Oaxaca. *Agrociencia* 40: 569-575.
- Akkerman, M., L. S. Kristense, L. Jespersen, M. B. Ryssel, A. Mackie, N. N. Larsen, U. Andersen, M. J. Nørgaard, M. M. Løkke, J. R. Møller, L. A. Mielby, B. V. Andersen, U. Kidmose & M. Hammershøj. 2017. Interaction between sodium chloride and texture in semi-hard Danish cheese as affected by brining time, DL-starter culture, chymosin type and cheese ripening. *International Dairy Journal* 70: 34-45.
- Alvarado-Rivas, C., Z. C. Rueda, J. O. Rojas, B. G. Cárdenas & G. L. Corcuera. 2007. Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias ácido lácticas de un queso venezolano ahumado andino artesanal: su uso como cultivo iniciador. *Revista científica Maracaibo* 17(3): 301-308.
- Álvarez, S., V. Rodríguez, M. E. Ruiz & M. Fresno. 2007. Correlación de textura y color instrumental con la composición química de quesos de cabra canarios. *Archivos de Zootecnia* 56(1): 663-666.
- Alvizouri-Muñoz, M. & A. Rodríguez-Barrón. 2009. Efectos médicos del aguacate. *Medicina Interna de México* 25(5): 379-385.
- Amiot, J. 1991. *Ciencia y tecnología de la leche: principios y aplicaciones*. Acribia, España, 547 pp.
- Astiasarán A., I. & J. A. Martínez H. 2003. *Alimentos: composición y propiedades*. 2003. 3ª ed. McGraw-Hill-Interamericana, México, 364 pp.
- Badui-Dergal, S. 2006. *Química de los alimentos*. 4ª ed. Pearson Educación, México, 736 pp.

- Badui-Dergal, S. 2012. La ciencia de los alimentos en la práctica. Pearson Educación, México, 328 pp.
- Badui-Dergal, S. 2013. Química de los alimentos. 5ª ed. Pearson Educación, México, 744 pp.
- Beltrán, B., R. Estévez, C. Cuadrado, S. Jiménez & B. Olmedilla A. 2012. Base de datos de carotenoides para valoración de la ingesta dietética de carotenos, xantofilas y de vitamina A; utilización en un estudio comparativo del estado nutricional en vitaminas A de adultos jóvenes. *Nutrición Hospitalaria* 27(4): 1334-1343.
- Borbolla-Sala, M. E., M. R. Vidal-Perez, O. E. Piña-Gutierrez, I. Ramirez-Messner & J. J. Vidal-Vidal. 2004. Contaminación de los alimentos por *Vibrio cholerae*, coliformes fecales, Salmonella, hongos, levaduras y *Staphylococcus aureus* en Tabasco durante 2003. *Salud en Tabasco* 10(2): 221-232.
- Bou, G., A. Fernández-Olmos, C. García, J. A. Sáez-Nieto & S. Valdezate. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* 29(8): 601-608.
- Brown, J. A., E. A. Foegeding, C. R. Daubert, M. A. Drake & M. Gumpertz. 2003. Relationships among rheological and sensorial properties of young cheeses. *Journal Dairy Science* 86: 3054-3067.
- BSI (British Standards Institution). 1976. Methods for chemical analysis of cheese. Determination of pH value. BS 770-5:1976. BSI: British Standards Institution, London, England.
- Cardozo M. C., A. J. V. Fusco & M. S. Carrasco. 2018. Microbiota levaduriforme en quesos artesanales de Corrientes, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología* 50(2): 165-172.
- Carrero B., M. B. & A. López-Molinello. 2012. Aislamiento e identificación preliminar de hongos contaminantes en queso paipa del municipio de Paipa, Boyacá. *Vitae* 19: 114-116.

- Castañon-Sánchez, C. A. 2012. Patogenia molecular de *Staphylococcus aureus*. Evidencia Medica e Investigación en Salud 5(3): 79-84.
- Castro-Castillo, G., F. E. Martínez-Castañeda, A. R. Martínez-Campos & A. Espinoza-Ortega. 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.
- Cervantes-Escoto, F., A. L. Patiño-Delgado, A. Cesín-Vargas & M. V. Gonzáles-Santiago. 2017. Innovando los estudios de mercado de los quesos artesanales: El valor simbólico del queso de poro. Estudios Sociales 27(49): 69-91.
- Cervantes-Escoto, F., A. Villegas-Gante, A. Cesín-Vargas & A. Espinoza-Ortega. 2013. Los quesos Mexicanos Genuinos: Patrimonio cultural que debe rescatarse. Biblioteca Básica de Agricultura, México, 356 pp.
- Cesín-Vargas, A. 2014. Reseña: Cervantes E., F. & A. Villegas G. 2012. La leche y los quesos artesanales en México. Agricultura, sociedad y desarrollo 11(2): 243-248.
- Chacón-Villalobos, A. & M. L. Pineda-Castro. 2009. Características químicas, físicas y sensoriales de un queso de cabra adaptado del tipo "Crottin de Chavignol". Agronomía Mesoamericana 20(2): 297-309.
- Chamorro, M. C. & M. M. Losada. 2002. El análisis sensorial de los quesos. Mundi Prensa, España, 235 pp.
- CIE (Comission Internationale pour l'Eclairage). 1976. Colorimétrie - Partie 4: Espace chromatique L*a*b*CIE 1976. Standard colorimetric systems international, Vienna, Austria. Consultado el 12 de septiembre de 2017: <http://cie.co.at/>
- Clemente-Granados, C., O. Gonzalo-Urbina & Diofanor-Acevedo C. 2010. Tecnificación, caracterización fisicoquímica y microbiológica del queso de

- capa de Mompox Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias 8(2): 41-45.
- Cocolin, L., M. Manzano, C. Cantoni & G. Comi. 2001. Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of the 16S rRNA gene V1 region to monitor dynamic changes in the bacterial population during fermentation of Italian sausages. *Applied and Environmental Microbiology* 67(11): 5113-5121.
- CODEX-STAN (Codex Standard). 2013. Norma General del Codex para el Queso. Codex Standard 283-1978. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y Organización de las Naciones Unidas. Fecha de Aprobación: Enero, 2011. Consultado: Noviembre 01, 2018: <http://www.fao.org/docrep/015/i2085s/i2085s00.pdf>
- Cortes-Macías, E. T., N. Peña-Gómez, C. M. Amorocho-Cruz & N. Gutiérrez-Guzmán. 2016. Evolución de parámetros fisicoquímicos de queso huilense, en almacenamiento refrigerado *Biología y Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial* 14(2): 110-118.
- Cristobal D., R. L. & D. J. Maurtua T. 2003. Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus spp.* *Revista Panamericana de Salud Publica* 14(3): 158-164.
- Culebro-Pérez, M. Y., L. A. Jiménez-Rincón, M. R. Ortiz-Herrera & H. León-Velazco. 2014. El Queso Crema Chiapas: Una historia que nos identifica. Universidad Autónoma de Chiapas, México, 102 pp.
- De los Reyes-Gavilan, C., Limsowtin, G.K.Y., Tailliez, P., Séchaud, L. and Accolas, J.P. 1992. A *Lactobacillus helveticus*-specific DNA probe detects restriction fragment length polymorphism in this species. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 3429-3432.
- Delgado C., R. L. & D. J. M. Torres. 2003. Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción

- bactericida de *Lactobacillus*. Revista panamericana de salud pública 14:158-164.
- Delgado, F. J., J. Gonzales-Crespo, R. Cava & R. Ramírez. 2011. Proteolysis, texture and color of a raw goat milk cheese throughout the maturation. European Food Research and Technology 233: 483-488.
- De-Renobales, M., L. J. Rodríguez-Barrón, F. J. Pérez-Elortondo, M. Virto, M. Albisu, A. I. Nájera & J. C. Ruiz-Gordoa. 2008. La investigación científica en el queso Idiazabal. Revista Internacional de estudios Vascos 53(2): 395-431.
- Díaz-Ramírez, M., M. García-Garibay, J. Jiménez - Guzmán & A. Villanueva-Carvajal. 2016. Inocuidad en alimentos tradicionales: el queso poro de Balacan como un caso de estudio. Estudios Sociales 47: 89-111.
- Díaz-Rivero, C. & B. Gonzales-García. 2001. *Staphylococcus aureus* en quesos blanco fresco y su relación con diferentes microorganismos indicadores de calidad sanitaria. Revista salud pública y nutrición 2(3): 1-8.
- Domínguez-López, A., A. Villanueva-Carvajal, C. M. Arriaga-Jordán & A. Espinoza-Ortega. 2011. Alimentos artesanales y tradicionales: el queso Oaxaca como un caso de estudio del centro de México. Estudios sociales 19(38): 167-193.
- Drake, M. A. & C. M. Delahunty. 2017. Chapter 20: Sensory Character of Cheese and Its Evaluation. Pp: 517-545 *In*: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. 4a ed. Teahasc Food Research Centre, USA.
- Durán, M. E. 2016. Estudio de consumo de leche y sus derivados en el municipio de Oaxaca de Juárez, México. Revista Mexicana de Agronegocios 20(39): 441-450.
- EC (Commission Regulation) EC-1881. 2006. Setting maximum levels for certain contaminants 1 in foodstuffs; Bureau of Standards, Metrology & Inspection, Chinese. Consultado el 7 de Noviembre de 2018: <http://www.bsmi.gov.tw/wSite/public/Attachment/f1498298072975.pdf>

- Edwards, J. E., A. H. Kingston-Smith, H. R. Jimenez, S. A. Huws, K. P. Skøt, G. W. Griffith, N. R. McEwan & M. K. Theodorou. 2008. Dynamics of initial colonization of nonconserved perennial ryegrass by anaerobic fungi in the bovine rumen. *Microbiology Ecology* 66: 537-545.
- El-Sayed, A., J. Alber, C. Lämmle, S. Jäger, W. Wolter & H. Castañeda-Vazques. 2006. Estudio comparativo de las características genotípicas de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de casos de mastitis clínica y subclínica en México. *Veterinaria México* 37(2): 165-179.
- El-Soda, M. & M. H. A. El-Salam. 2011. Cheeses Matured in Brine. Pp: 790-794 *In: Encyclopedia of Dairy Sciences*. 2a ed., Encyclopedia of Dairy Sciences, USA.
- Escobar-López, S. Y., A. Espinoza-Ortega, F. Salazar-García & A. R. Martínez-Campos. 2017. Análisis del efecto antibacteriano del chile (*Capsicum annum spp*) y el epazote (*Chenopodium ambrosioides*) utilizados en la elaboración del queso botanero. *Revista Mexicana Ciencias Pecuarias* 8(2): 211-217.
- Espinosa, O. A., D. C López, B. G. García y H. G. Rivera. 2008. Los canales y márgenes de comercialización de la leche cruda producida en sistema familiar. *Revista Veterinaria de México* 39(1): 1-16.
- Etchevers, F., E. Zamboni, Z. Della G., A. Giéco, L. Gervasoni, M. Gerard, G. Lopez, J. Butus & M. Cian. 2010. Calidad microbiológica de leche y quesos según el suministro de diferentes silajes. *Ciencia, Docencia y Tecnología* 22(41): 129-143.
- EXCEL. 2013. Excel Manuales USERS. Microsoft Excel Professional Plus, USA. 320 pp.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 1993. Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos. GCP/RLA/102/ITA. Consultado: Enero 30, 2020.

- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 1993. Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos. FAO GCP/RLA/102/ITA. D. F., México. Fecha de aprobación y publicación: Mayo 1993.
- Faye, B. & G. Konuspayeva. 2012. The sustainability challenge to the dairy sector e the growing importance of non-cattle milk production worldwide. *International Dairy Journal* 24: 50-56.
- Fernández, F., C. Barbés & A. Rodríguez-González. 2004. Queso artesanal probiótico: un ejemplo de queso funcional. Centro Tecnológico Nacional de la Conserva y Alimentación, España, 7 pp.
- Gámbaro, A., V. González, S. Jiménez, A. Arechavaleta, B. Irigaray, N. Callejas, M. Grompone & I. Vieitez. 2017. Chemical and sensory profiles of commercial goat cheeses. *International Dairy Journal* 69: 1-8.
- Gamboa-Alvarado, J. G. 2011. Manual técnico para elaborar productos lácteos. Universidad del Mar & Fundación Produce Oaxaca 2:25. Consultado: Octubre,15,2018:http://siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/20/2013/trimestrales/anexo_521-5-2013-11-1.pdf
- Gamboa-Alvarado, J. G., D. Almaraz R. & E. J. Ramírez-Rivera. 2012. Calidad Fisicoquímica y sensorial de queso tipo Manchego durante la maduración. *Revista Científica UDO Agrícola* 12(4): 929-938.
- Gao, J., M. Ferreri, X. Q. Liu, L. B. Chen, J. L. Su & B. Han. 2011. Development of multiplex polymerase chain reaction assay for rapid detection of *Staphylococcus aureus* and selected antibiotic resistance genes in bovine mastitic milk samples. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 23(5): 894-901.
- Giannoglou, M., Z. Karra, E. Platakou, G. Katsaros, G. Moatsou & P. Taoukis. 2016. Effect of high pressure treatment applied on starter culture or on semi-ripened cheese in the quality and ripening of cheese in brine. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 38: 312-320.

- Glauber, C. E. 2007. Fisiología de la lactación en la vaca lechera. *Veterinaria Argentina* 24(234): 274-281.
- Gómez-Alvarado, T., M. Hernández-Cervantes, J. López-Vélazquez, R. S. Cabrera, L. G. Ramón-Canul, J. M. Juárez-Barrientos & E. J. Ramírez-Rivera. 2010. Caracterización sensorial del queso fresco "cuajada" en tres localidades de Oaxaca, México: diferencias en la percepción sensorial. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimento* 1(2): 127-140.
- González-Cordova, A. F., C. Yescas, A. M. Ortiz-Estrada, M. A. Rosa-Alcaraz, A. Hernández-Mendoza & B. Vallejo-Córdoba. 2016. Invited review: Artisanal Mexican cheeses. *Journal of Dairy Science* 99(5): 3250-3262.
- Gonzales-Montiel, L. & M. J. Franco-Fernández. 2015. Perfil microbiológico del queso de aro consumido en la Cañada Oaxaqueña. *Brazilian Journal of Food Technology* 18(3): 250-257.
- González-Martínez, B. E., M. Gómez-Trevino & Z. Jiménez-Salas. 2003. Bacteriocinas de Probióticos. *Revista Salud Pública y Nutrición* 4(2).
- Grass-Ramírez, J. F. & A. Cesín-Vargas. 2014. Situación actual y retrospectiva de los quesos genuinos de Chiautla de Tapia, México. *Agricultura, sociedad y desarrollo* 11(2): 201-221.
- Grass-Ramírez, J. F., F. Cervantes-Escoto & R. R. Altamirano-Cárdenas. 2013. Estrategias para el rescate y valorización del queso tenate de Tlaxco. Un análisis desde el enfoque de sistemas agroalimentarios localizados (Sial). *Culturales* 1(2): 9-54.
- Guinee, T. P. & K. N. Kilcawley. 2017. Chapter 29. Cheese. Pp: 715-755 *In: Chemistry, Physics and Microbiology*. 4a ed., Teahasc Food Research Centre, USA.
- Guzmán-Estremadoyro L. J., N. A. Mayorga-Sánchez & C. F. Mejía-Munive. 2015. Evaluación de parámetros físicos, químicos y microbiológicos del queso

fresco prensado producido en la región Junín, Perú. *Apuntes de ciencia y sociedad* 5(2): 280-286.

Hammer, Ø., D.A.T. Harper & P.D. Ryan. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9: http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm

Hayaloglu, A. A., C. Tolu, K. Yasar & D. Sahingil. 2013. Volatiles and sensory evaluation of goat milk cheese Gokceada as affected by goat breeds (Gokceada and Turkish Saanen) and starter culture systems during ripening. *Journal of Dairy Science* 96(5): 2765-2780.

Heredida-Castro, P. Y., A. Hernández-Mendoza, A. F. González-Córdova & B. Vallejo-Cordoba. 2017. Bacteriocinas de bacterias ácido lácticas: mecanismos de acción y actividad antimicrobiana contra patógenos en quesos. *Interciencia* 42(6): 340-346.

Herman-Lara, E., D. Bolivar-Moreno, V. M. Toledo-Lopez, L. F. Cuevas-Glory, M. C. Lope-Navarrete, J. A. Barron-Zambrano, P. Díaz-Rivera & E. J. Ramírez-Rivera. 2019. Minerals multi-element analysis and its relationship with geographical origin of artisanal Mexican goat cheeses. *Food Science and Technology*, In Press.

Hernández P., M. 2016. Seguridad alimentaria: el bueno, el feo y el malo, de las UFC a las OTUs. *Semaforo: Especial Microbiología de los Alimentos*. Instituto Tecnológico Agrario de la Castilla y León 62: 53-55.

Hernández-Briones, V., M. Quirasco-Baruch & B. Quintero-Salazar. 2009. Un acercamiento al mundo del queso Cotija Región de Origen^{MC}: arte y tradición de México. *Revista Virtual Gastronómica* 5: 5-19.

Hernández-Cervantes, M., J. López-Velázquez, T. Gómez-Alvarado, R. Santiago-Cabrera, L. G. Ramón-Canul, F. K. Delgado-Vidal, A. J. Shain-Mercado, Y. Huante-González & E. J. Ramírez-Rivera. 2010. Comparación de la

descripción sensorial del queso fresco “cuajada” mediante el análisis descriptivo cuantitativo y el perfil flash. *Ciencia y Mar* 14(42): 3-12.

Hernández-Morales, C., A. Hernández-Montes, A. Z. Villegas G. & E. Aguirre M. 2011. El proceso socio-técnico de producción de Queso Añejo de Zacazonapan, Estado de México. *Revista Mexicana de Ciencia Pecuaria* 2(2): 161-176.

Hernández-Morales, C., A. Hernández-Montes, E. Aguirre-Mandujano & A. Villegas G. 2011. Physicochemical, microbiological, textural and sensory characterisation of Mexican Añejo cheese. *International Journal of Dairy Technology* 63(4): 552-560.

Herrera A., F. & J. Santos B. 2015. Presencia de *Staphylococcus aureus* Metilcilina-resistentes en queso doble crema artesanal. *Revista U. D. C. A. actualidad & divulgación científica* 18: 29-37.

Hookey, J. V., J. F. Richardson & B. D. Cookson. 1998. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* base on PCR restriction fragment length polymorphism and DNA sequence analysis of the coagulase gene. *Journal of Clinical Microbiology* 36(4): 1083-1089.

Hurley, W. L. 2010. Lactation biology. University Press. University of Illinois, USA, Consultado: Octubre 30, 2018: ansci.illinois.edu/static/ansc438/

Husson, F., Lê, S., & J. Pagès. 2017. Multiple correspondence analysis MCA. Pp 131-172. In: F. Husson, S. Lê, & J. Pagès, *xploratory multivariate analysis by example using R*. Hapman and Hall/CRC.

IMPI (Instituto Mexicano de la Propiedad Intelectual). 2018. Propiedad intelectual. Consultado: 23 Octubre de 2018: <https://www.gob.mx/impi>

INCAP (Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá). 2012. Tabla de composición de alimentos de Centroamérica. 2ª ed. INCAP, Guatemala, 128 pp.

- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). 2018. PIB y Cuentas Nacionales de México. Consultado: Septiembre 06, 2018: <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/cn/pibt/default.aspx>
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). 2014. Encuesta Nacional Agropecuaria (ENA) 2014. Consultado: Septiembre 05, 2017: <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/encuestas/agropecuarias/ena/ena2014/>
- ISO (International Organization for Standardization). 1993. Sensory analysis - General Guidance for the selection, training and monitoring of assessors - Part 1: Selected assessors: ISO 8586-1:1993. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO (International Organization for Standardization). 1994. Analyse Sensorielle – Methodologie. Pp: 271-300 *In: Analyse sensorielle NF ISO 11035: Recherche de descripteurs par lélaboration d'un Profil Sensoriel par approche multidimensionnelle*. 1st Ed, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- Juárez-Barrientos, J. M., J. Rodríguez-Miranda, C. E. Martínez-Sánchez, B. Hernández-Santos, E. Paz-Gamboa, C. A. Gómez-Aldapa, P. Díaz-Rivera & E. Herman-Lara. 2015. Evaluación y clasificación de calidad de leches comerciales consumidas en Tuxtepec, Oaxaca, México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 2(6): 327-337.
- Juárez-Barrientos, J. M., P. Díaz-Rivera, J. Rodríguez-Miranda, C. E. Martínez-Sánchez, B. Hernández-Santos, E. Ramírez-Rivera, J. G. Torruco-Uco & E. Herman-Lara. 2016. Caracterización de la leche y clasificación de calidad mediante análisis Clúster en sistemas de doble propósito. *Revista Mexicana de Ciencia Pecuaria* 7(4): 525-537.
- Kalin, R., M. Karahan, M. N. Acik, B. Tasdemir & B. Centinkaya. 2017. Development of A Multiplex PCR Method for Direct Detection of Common Mastitis

- Pathogens in Bovine Milk Samples. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi* 23(6): 925-931.
- Kamimura, B. A., F. Filippis, A. S. Sant'Ana & D. Ercolini. 2019. Large-scale mapping of microbial diversity in artisanal Brazilian cheeses. *Food Microbiology* 80: 40-49.
- Klein B. G. 2014. *Cunningham: Fisiología Veterinaria*. Elsevier, España, 624 pp.
- Kosikowski, F. V. 1985. El queso. *Investigación y Ciencia* 106: 50-72.
- Lawlor, J. B., C. M. Delahunty, J. Sheehan & M. G. Wilkinson. 2003. Relationships between sensory attributes and the volatile compounds, non-volatile and gross compositional constituents of six blue-type cheeses. *International Dairy Journal* 13: 481-494.
- Linage, B., J. M. Rodríguez-Calleja, A. Otero, M. L. García-López & J. A. Santos. 2012. Characterization of coagulase-positive staphylococci isolated from tank and silo ewe milk. *Journal Dairy Science* 95: 1639-1644.
- Lodoño, O. M. 2006. Aprovechamiento del suero ácido de queso doble crema para la elaboración de quesillo utilizando tres métodos de complementación de acidez con tres ácidos orgánicos. *Perspectiva en Nutrición Humana* 16:11-20.
- López, R., A. Hernández-Montes, A. Villegas-De Gante & A. Santos-Moreno. 2015. Caracterización socio técnica del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas. *Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias* 2(2): 345-353.
- López-Aquino, M. C. & Méndez-Altamirano E. 2016. Tipificación del queso artesanal fresco "cuajada" de Tehuantepec, Oaxaca. Tesis de Ingeniería en Industrias Alimentarias. Instituto Tecnológico de Comitancillo, México.
- López-Gómez, A. & A. Madrid-Vicente. 2003. *Manual de Industrias Lácteas*. Tetra Pak, Mundi-Prensa, Madrid, 436 pp.

- López-Guzmán, G., E. Palomec-Aragón, K. C. Carrasco-Ramírez, R. Mata-Luis, Z. Castillejos-Antonio, E. J. Ramírez-Rivera, R. S. Cabrera. 2012. Elaboración del queso fresco “cuajada” con dos tipos de cuajos comerciales: impacto sobre las reacciones de preferencia de los consumidores. *Revista Venezolana. Ciencia. Tecnología. Alimentos.* 3(1): 14-27.
- Lozano-Moreno, O. & A. Villegas G. 2016. Valorización simbólica del Queso Crema de Chiapas, un queso mexicano tradicional con calidad de origen. *Revista de Turismo y Patrimonio Cultural* 14(2): 459-473.
- Lupiañez-Barbero, A., C. G. Blanco & A. L. Hidalgo. 2018. Tablas y bases de datos de composición de alimentos españolas: necesidad de un referente para los profesionales de la salud. *Endocrinología, diabetes y nutrición* 65(6): 361-373.
- Magurran, A. E. 1988. *Ecological diversity and its measurement.* Princeton University Press, New Jersey, 179 pp.
- Martín C. M., C., H. E. Gómez H. & R. Alaníz O. 2008. Bacterias ácido lácticas con capacidad antagónica y actividad bacteriocinogénica aisladas de quesos frescos. *e-Gnosis* 6(5): 1-17.
- Martínez-López, V., S. T. Moral-Ventura, B. Sachman-Ruiz, L. P. Ramírez-Coutiño, M. J. García-Gómez. 2016. Dinámica poblacional y aislamiento de bacterias ácido lácticas en lactosuero fermentado. *Nova scientia* 8(17): 326-339.
- Mathias-Rettig, K. & Ah-Hen. 2014. El color de los alimentos un criterio de calidad medible. *Agro Suer* 42(2): 39-48.
- Mathias-Rettig, K. & K. Ah-Hen. 2014. El color de los alimentos un criterio de calidad medible. *Agro Sur* 42(2): 39-48.
- McSweeney, H. P. L. 2017. Chapter 14: Biochemistry of Cheese Ripening: Introduction and Overview. Pp: 379-387 In: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, 4a ed. Teahasc Food Research Centre, USA.

- Mejía-López, A., S. Rodas & D. Baño. 2017. La desnaturalización de las proteínas de la leche y su influencia en el rendimiento del queso fresco. *Enfoque UTE* 8(2): 121-130.
- Méndez-Álvarez, S. & E. Pérez-Roth. 2004. La PCR múltiple en microbiología clínica. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* 22(3): 183-192.
- Miloradovic, Z., N. Kljajevic, J. Miocinovic, N. Tomic, J. Smiljanic & O. Macej. 2017. High heat treatment of goat cheese milk. The effect on yield, composition, proteolysis, texture and sensory quality of cheese during ripening. *International Dairy Journal* 68: 1-8.
- Mondino, M. C. & J. Ferratto. 2006. El análisis sensorial, una herramienta para la evaluación de la calidad desde el consumidor. *Agromensajes de la facultad* 18: 16-24.
- Mosbah H., A. Sayari, H. Mejdoub, H. Dhouib & Y. Gargouri. 2005. Biochemical and molecular characterization of *Staphylococcus xylosus* lipase. *Biochimica et Biophysica Acta* 1723: 282-291.
- Muñoz-Chávez, M. 2014. *Composición de alimentos*. 3ª ed. McGraw-Hill, México, 420 pp.
- Murray, R. K., D. A. Bender, K. M. Botham, P. J. Kennelly, V. W. Rodwell & P. A. Weil. 2012. Harper: *Bioquímica ilustrada*. 29ª ed. Mc Graw Hill, México, 803 pp.
- Narváez-Guillén, B. L., M. A. Cruz-Hernández, F. Hernández-Centeno, M. I. M. Flores-Verastegui, D. G. Martínez-Vázquez & S. C. Rangel-Ortega. 2017. Selección de bacterias ácido lácticas del queso artesanal de leche de cabra de Coahuila para su uso como cultivos iniciadores. *Investigación y ciencia* 25(72): 45-52.
- Navas T., S. A. 2016. Influencia de la composición de la leche sobre el rendimiento quesero. *Revista Interdisciplinaria de Humanidades, Educación, Ciencia y Tecnología* 2(3): 25-40.

- Navia, D. P., H. S. Villada, S. A. Mosquera. 2010. Las biopelículas en la industria de alimentos. *Facultad de ciencias agropecuarias* 8(2): 108-128.
- Nicholson, M. J., C. S. McSweeney, R. I. Mackie, J. L. Brookman, M. K. Theodorou. 2010. Diversity of anaerobic gut fungal populations analysed using ribosomal ITS1 sequences in faeces of wild and domesticated herbivores. *Anaerobe* 16: 66-73.
- Noback, P., M. Vera, A. Dallagnol & A. Pucciarelli. 2013. Evaluación de *Listeria monocytogenes* y calidad microbiológica en quesos frescos de producción artesanal. *Tecnología Lactea Latinoamericana* 79: 52-55.
- O'Callaghan, F. T., D. T. Mannion, D. Hennessy, S. McAuliffe, M. G. O'Sullivan, N. Leeuwendaal, T. P. Beresford, P. Dillon, K. N. Kilcawley, J. J. Sheehan, R. P. Ross & C. Stanton. 2017. Effect of pasture versus indoor feeding systems on quality characteristics, nutritional composition, and sensory and volatile properties of full-fat Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science* 100(8): 6053-6073.
- Oca-Flores, E. M., A. Espinoza-Ortega & C. M. Arriaga-Jordán. 2019. Propiedades tecnológicas y fisicoquímicas de la leche y características fisicoquímicas del queso Oaxaca tradicional. *Revista Mexicana de ciencias pecuarias* 10(2): 367-378.
- OCDE & FAO (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos & Food and Agriculture Organization). 2017a. Cheese projections: Production and trade. *OCDE Agriculture statistics (database)*, Australia, 1 pp. Consultado: Agosto 30, 2017: dx.doi.org/10.1787/agr-outl-data-en.
- Oliszweski, R., A. E. Rabasa, J. L. Fernández, M. A. Poli & M. S. Nuñez-Kairuz. 2002. Composición química y rendimiento quesero de la leche de cabra Serrana del noroeste argentino. *Zootecnia Tropical* 20(2).
- Oliveira, G. M. E., E. F. Garcia, R. C. R. E. Queiroga & E. L. Souza. 2012. Technological, physicochemical and sensory characteristics of a Brazilian

- semi-hard goat cheese (Coalho) with added probiotic lactic acid bacteria. *Scientia Agricola* 69(6): 370-379.
- Olson, D. W., D. L. Van-Hekken, M. H. Tunick, P. M. Tomasula, F. J. Molina-Corral & A. A. Gardea. 2011. Mexican Queso Chihuahua: Funtional properties of aging cheese. *Journal of Dairy Science* 94(9): 4292-4299.
- OMPI (Organización Mundial de la Propiedad Intelectual). 2018. ¿Qué es la propiedad intelectual?. Organización Mundial de la Propiedad Intelectual. Ginebra, Suiza, 25 pp.
- OMS & ONU (Organización Mundial de la Salud y Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2011. *Codex Alimentarius: Leche y Productos Lácteos*. 2da edición.
- Orbera-Raton, T. M. 2004. Acción perjudicial de las levaduras sobre los alimentos. *Revista Cubana de salud pública* 30(3).
- Osorio-Tobón, J. F., H. J. Ciro-Velásquez & L. G. Mejía-Restrepo. 2004. Caracterización textural y fisicoquímica del queso Edam. *Revista Facultad Nacional de Agronomía de Medellín* 57: 2269-2278.
- Palomino-Camargo, C. & Y. González-Muñoz. 2014. Técnicas moleculares para la detección e identificación de patógenos en alimentos: ventajas y limitaciones. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica* 31(3): 535-546.
- Panizzolo, L. A., A. C. Araújo, L. V. Taroco, A. Rodríguez & G. Schöpf. 2011. Evaluación de la proteólisis durante la maduración de queso Danbo elaborados con distintos cultivos iniciadores. *Revista del laboratorio tecnológico del Uruguay* 6: 24-27.
- Parra-Huertas, R. A. 2010. Review: Bacterias acido lácticas: Papel funcional en los alimentos. *Facultad de Ciencias Agropecuarias* 8(1): 93-105.
- Peláez-Puerto, P., M. R. Fresno-Baquero, C. Díaz-Romero & J. Darías-Martin. 2003. Caracterización físico-química de quesos frescos elaborados con leche de

- cabra en la isla de Tenerife. *Ciencia y tecnología de alimentos* 4(2): 103-108.
- Pérez M., R. A. 1991. Metodología de la investigación científica aplicada a la salud pública, 1er. ed., Editorial Trillas, México pp 40-46.
- Pérez, C. M., M. M. Sánchez, S. Henao & N. M. Cardona-Castro. 2008. Estandarización y evaluación de dos pruebas de Reacción en Cadena de la Polimerasa para el diagnóstico de *Salmonella entérica* subespecie *entérica* en huevos. *Archivos de medicina veterinaria* 40(3): 235-242.
- Pérez, S., M. Cuen & R. Becerra. 2003. El achiote. *Biodiversitas* 46: 7-11.
- Perreault, V., N. Rémillard, D. Chabot, P. Morin, Y. Pouliot and M. Britten. 2017. Effect of denatured whey protein concentrate and its fractions on cheese composition and rheological properties. *Journal of Dairy Science* 100: 5139-5152.
- Phuektes, P., P. D. Mansell & G. F. Browning. 2001. Multiplex polymerase chain reaction assay for simultaneous detection of *Staphylococcus aureus* and Streptococcal causes of bovine mastitis. *Journal of Dairy Science* 84(5): 1140-1148.
- Pires, V., R. Rivas & P. García-Fraile. 2019. Análisis metagenómico de la evolución de las comunidades microbianas en alimentos sometidos a refrigeración y en condiciones de ausencia de frío.
- PROFECO (Procuraduría Federal de Defensa del Consumidor). 2000. Calidad de Quesos. *Revista del Consumidor* 278:1-17.
- Purroy, M., B. Hernández, C. Saenz & P. Torre. 2005. Escalas subjetivas de color en queso de Roncal. Correlación con las medidas instrumentales. *Óptica pura y aplicada* 38(1): 1-3.
- R versión 3.5.2. Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Consultado el 26 Diciembre 2019: <https://www.r-project.org>.

- RAE (Real Academia Española). 2018. Diccionario de la Real Academia Española.
Consultado: Noviembre 01, 2018: www.rae.es
- Ramírez-López, C. & J. F. Vélez-Ruiz. 2012. Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 6(2): 131-148.
- Ramírez-López, C. & J. F. Vélez-Ruiz. 2016. Aislamiento, caracterización y selección de Bacterias Lácticas Autóctonas de leche y queso fresco artesanal de cabra. *Información tecnológica* 27(6): 115-128.
- Ramírez-Navas, J. S. 2010. Espectrocolorimetría en caracterización de leches y quesos. *Tecnología Lactea Latinoamerica* 61:52-56.
- Ramírez-Navas, J. S. 2012. Análisis sensorial: pruebas orientadas al consumidor. *ReCiTeIA* 12: 85-101.
- Ramírez-Navas, J. S., J. Aguirre-Londoño, V. A. Aristizabal-Ferreira & S. Castro-Narváez. 2017. La sal en el queso: diversas interacciones. *Agronomía mesoamericana* 28: 303-316.
- Ramírez-Nolla, S. & J. F. Vélez-Ruiz. 2012. Queso Oaxaca: panorama del proceso de elaboración, características fisicoquímicas y estudios recientes de un queso típico mexicano. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos* 6(1): 1-12.
- Ramírez-Rivera, E. J., J. M. Juárez-Barrientos, J. Rodríguez-Miranda, P. Díaz-Rivera, L. G. Ramón-Canul, J. A. Herrera-Corredor, M. I. Hernández-Serrano and E. Herman-Lara. 2017b. Typification of a goat fresh cheese of Mexico by path models. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 41: 1605-1666.
- Ramírez-Rivera, E. J., J. Rodríguez-Miranda, I. R. Huerta-Mora, A. Cárdenas-Cágal & J. M. Juárez-Barrientos. 2019. Tropical milk production systems and milk quality: a review. *Tropical Animal Health and Production*: 1-11.
- Ramírez-Rivera, E. J., L. G. Ramón-Canul, G. Torres-Hernández, J. A. Herrera-Corredor, J. M. Juárez-Barrientos, J. Rodríguez-Miranda, E. Herman-Lara

- & P. Díaz-Rivera. 2018. Tipificación de quesos madurados de cabra producidos en la zona montañosa central del estado de Veracruz, México. *Agrociencia* 52: 15-24.
- Ramírez-Rivera, E. J., L.G. Ramón-Canul, P. Díaz-Rivera, J. M. Juárez-Barrientos, E. Herman-Lara, W. Prinyawiwatkul & J. A. Herrera-Corredor. 2017a. Sensory profiles of artisan goat cheeses as influenced by the cultural context and the type of panel. *International Journal of Food Science & Technology* 52(8): 1789-1800.
- Ramos-Gabriel, S. U., J. A. Herrera-Corredor, J. G. Gamboa-Alvarado & E. J. Ramírez-Rivera. 2019a. Impact of fermented whey addition on resulting sensory characteristics and consumer preference of ripened cheeses. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 32(6): 449-458.
- Ramos-Gabriel, S. U., N. Y. Ávila-Serrano, J. K. Cruz-Vázquez, J. G. Gamboa-Alvarado & E. J. Ramírez-Rivera. 2019b. Impacto de la adición de suero fermentado en las características fisicoquímicas y sensoriales de quesos maduros. *Revista Mexicana de Agroecosistemas* 6(2): 317-324.
- Ramos-Izquierdo, B., A. Bucio-Galindo, C. Bautista-Muñoz, E. Aranda-Ibáñez, F. Izquierdo-Reyes. 2009. Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias ácido lácticas para la elaboración de queso crema tropical. *Universidad y Ciencia* 25(2): 159-171.
- Rebollar-Rebollar, S., J. Hernández-Martínez, F. J. Gonzales-Razo, A. García-Martínez, B. Albarrán-Portillo & R. Rojo-Rubio. 2011. Canales y márgenes de comercialización del queso añejo en Zacazonapan, México. *Archivos de Zootecnia* 60(232): 883-889.
- Reséndiz M. R., Z. J. S. Hernández, H. R. Ramírez & A. R. Pérez. 2012. El queso fresco artesanal de la canasta básica y su calidad sanitaria en Tuzupapan, México. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal* 2: 253-255.
- Ribadeau-Dumas, B. & R. Grappin. 1989. Milk protein analysis. *Le Lait* 69(5): 357-416.

- Ríos-Flores, L., M. Torres-Moreno, E. Cantú-Brito, A. Torres-Moreno & C. Navarrete-Molina. 2016. Análisis económico de los sistemas de producción bovino lechero en el estado de Zacatecas, México. *Abanico veterinario* 6(2): 54-59.
- Ríos-Flores, L., M. Torres-Moreno, J. Ruiz-Torres, C. Navarrete-Molina, A. Torres-Moreno & E. Cantú-Brito. 2015. Crecimiento económico de los sistemas de producción bovino lechero en Jalisco, México Periodo 2005-2013. *Abanico veterinario* 5(3): 20-35.
- Rodríguez-Pacheco, J., L. Borrás-Sandoval, M. Pulido Medellín & D. García-Corredor. 2016. Calidad microbiológica en quesos frescos artesanales distribuidos en plazas de mercado de Tunja, Colombia. *Revista cubana de Higiene y Epidemiología* 53(3).
- Rogers, N. R., M. A. Drake, C. R. Daubert, D. J. McMahon, T. K. Bletsch & E. A. Foegeding. 2009. The effect of aging on low-fat, reduced-fat, and full-fat Cheddar cheese texture. *Journal Dairy Science* 92: 4756-4772.
- Romero-Castillo, P. A., G. Leyva-Ruelas, J. G. Cruz-Castillo & A. Santos-Moreno. 2009. Evaluación de la calidad sanitaria de quesos crema tropical mexicano de la región de Tonalá, Chiapas. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 8(1): 111-119.
- Rosado-Zarrabal, T. L., H. Corzo-González, Morales-Fernández S. D., A. M. Velázquez-Méndez & A. Wong-Villareal. 2013. Caracterización Físicoquímica de Queso Étnicos del estado de Chiapas. *Revista Ciencia Universidad Autónoma de Tamaulipas* 8(1):6-10.
- Rosa-Moreno, C. & D. M. G. F. Bernadette. 2002. Bacteriocinas de bacterias lácticas. *ConScientiae Saúde*: 9-15.
- Ruiz-Romero, R. A., R. A. Cervantes-Olivares, D. Martínez-Gómez, A. E. Ducoing-Watty, L. Hernández-Andrade. 2013. Desarrollo de una PCR múltiple para la identificación de *Staphylococcus spp.* Como una causa de mastitis caprina. *Archivos de Medicina Veterinaria* 45: 327-331.

- Sánchez-Ponte, M. D. 2003. Maduración acelerada de queso con bacterias lácticas atenuadas térmicamente. Revista científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Zulia 13(4): 299-306.
- Santos, M. A. 2007. Leche y sus derivados. 2a ed., Trillas, México, 238 pp.
- SAS. 2003. SAS User's Guide (Release 9.0). Statistic SAS Inst. Inc., Cary. NC.
- Sayari, A., N. Agrebi, S. Jaoua & Y. Gargouri. 2001. Biochemical and molecular characterization of *Staphylococcus simulans* lipase. Biochimie 83(9): 863-871.
- SCFI (Secretaría de Comercio y Fomento Industrial) & SSA (Secretaria de Salud). 2016. Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados-Información comercial y sanitaria. Modificación de NOM-051-SCFI/SSA1-2010. Diario Oficial de la Federación. Fecha de aprobación y publicación: Abril 5, 2010.
- SCFI (Secretaría de Comercio y Fomento Industrial). 2002. Sistema general de unidades de medida. NOM-008-SCFI-2002. Diario Oficial de la Federación. Fecha de aprobación y publicación: Noviembre 27, 2002.
- SE (Secretaría de Economía). 2006. Alimentos – Determinación de grasa (Método gravimétrico por hidrólisis acida) – Método de prueba. NMX-F-427-NORMEX-2006. Diario Oficial de la Federación. Fecha de aprobación y publicación: Junio, 22, 2006.
- SE (Secretaría de Economía). 2011. Alimentos - Determinación de proteínas en alimentos - Método de ensayo (prueba). NMX-F-608-NORMEX-2011. Diario Oficial de la Federación. Fecha de aprobación y publicación: Agosto 18, 2011.
- SE (Secretaria de Economía). 2012. Análisis del sector Lácteo en México. Dirección General de Industrias Básicas, México, 18 pp.

- SE (Secretaría de Economía). Alimentos – Determinación de cenizas en alimentos – Método de Prueba. NMX-F-607-NORMEX-2013. Diario Oficial de la Federación. Fecha de aprobación y publicación: Agosto 27, 2013.
- SECOM (Secretaría de Comercio y Fomento Industrial). 1970a. Calidad para quesos procesados. NMX-F-092-1970. Diario Oficial de la Federación. Fecha de aprobación y publicación: Agosto 6 de 1970.
- SECOM (Secretaría de Comercio y Fomento Industrial). 1970b. Método de prueba para la determinación de pH en quesos procesados. NMX-F-099-1970. Diario Oficial de la Federación. Fecha de aprobación y publicación: Julio 13 de 1970.
- SECOM (Secretaría de Comercio y Fomento Industrial). 1978. Determinación de pH en alimentos. NMX-F-317-S-1978. Diario Oficial de la Federación. Fecha de aprobación y publicación: Mayo 23 de 1978.
- SECOM (Secretaría de Comercio y Fomento Industrial). 1984. Alimentos-Lácteos-Determinación de sólidos totales en quesos. NMX-F-111-1984. Diario Oficial de la Federación. Fecha de aprobación y publicación: Diciembre 10 de 1984.
- SECOM (Secretaría de Comercio y Fomento Industrial). 1986. Alimentos – Determinación de humedad en productos alimenticios. NMX-F-083-1986. Diario Oficial de la Federación. Fecha de aprobación y publicación: Agosto, 1986.
- Serrano-Altamirano, V., M. M. Silva-Serna, M. A. Cano-García, G. Medina-García & A. Ruiz-Corral. 2005. Estadísticas climatológicas básicas del estado de Oaxaca (periodo 1961-2003). Instituto Nacional de Investigación Forestales Agrícolas y Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Libro técnico No. 4. Oaxaca, México, 272 pp.
- SIAP (Secretaría de Información Agroalimentaria y Pesca). 2018. Boletín de Leche abril-junio de 2018, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural,

Pesca y Alimentación. Consultado: Septiembre 6, 2018:
<https://www.gob.mx/siap/documentos/boletin-de-leche?state=draft>

Sokal, R. R. & P. H. A. Sneath. 1963. Principles of numerical taxonomy. San Francisco y Londres, Freeman and Cía.

Solís-Méndez, A. D., R. Martínez-Loperena, J. Solorio-Sánchez, J. G. Estrada-Flores, F. Avilés-Nova, A. T. Gutierrez-Ibañez & O. A. Castelán-Ortega. 2013. Características del queso tepeque de la tierra caliente de Michoacán: un queso producido en un sistema pastoril intensivo. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 16: 201-2014.

Soodam, K., L. Ong, I. B. Powell, S. E. Kentish & S. L. Gras. 2017. Effect of elevated temperature on the microstructure of full fat Cheddar cheese during ripening. *Food Structure*, In Press.

SSA (Secretaría de Salud). 1994. Bienes y servicios – Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestra de alimentos para su análisis microbiológico. NOM-109-SSA1-1994. Diario Oficial de la Federación. Fecha de aprobación y publicación: Noviembre 4, 1995.

SSA (Secretaría de Salud). 1994. Quesos: Frescos, Madurados y Procesados. Especificaciones Sanitarias. NOM-121-SSA1-1994. Diario Oficial de la Federación. Fecha de aprobación y publicación: Diciembre 15, 1995.

SSA (Secretaría de Salud). 2009. Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. NOM-251-SSA1-2009. Diario Oficial de la Federación. Fecha de aprobación y publicación: Diciembre 8, 2009.

SSA (Secretaría de Salud). 2010. Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. NOM-243-SSA1-2010. Diario Oficial de la Federación. Fecha de aprobación y publicación: Septiembre 27, 2010.

- Stephan, R., C. Annemüller, A. A. Hassan & Ch. Lämmli. 2001. Characterization of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis in north-east Switzerland. *Veterinary Microbiology* 78: 373-382.
- Straub, J. A., C. Hertel & W. Hammes. 1999. A 23S rDNA-targeted polymerase chain reaction-based system for detection of *Staphylococcus aureus* in meat starter cultures and dairy products. *Journal of food protection* 62(10): 1150-1156.
- Swaisgood, H. E. 1993. Review and Update of Casein Chemistry. *Journal of Dairy Science*. 76(10):3054-3061.
- Talbot-Walsh, G., D. Kannar & C. Selomulya. 2019. pH effect on the physico-chemical, microstructural and sensorial properties of processed cheese manufactured with various starches. *LWT – Food Science and Technology* 111: 414-422.
- Team, R. C. 2016. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <https://www.r-project.org>.
- Teubner, C, H. Mair-Waldburg & F. W. Ehlert. 2009. *El gran libro del queso: la cocina práctica del queso y una completa enciclopedia ilustrada con fotografías en color*. Everest, España, 255 pp.
- Tornadijo, M. E., A. I. Marra, M. C. Garcia-Fontán, B. Prieto & J. Caraballo. 1998. La calidad de leche destinada a la fabricación de queso: calidad química. *Ciencia y tecnología alimentaria* 2(2): 79-91.
- Torres-Villa, R. & E. Barragán-López. 2016. Hábitat de la cultura ranchera en la sierra de Jalisco y Michoacán, México. *International Journal of Scientific Management and Tourism* 2(4): 281-301.
- TotalLab TL120 v2009. 2008. 1D Analysis Tutorial. Nonlinear dynamics Ltd, USA: Consultado el 08 de Enero 2020: www.nonlinear.com

- UNESCO (Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura). 2018. Patrimonio Inmaterial: Lista Representativa del Patrimonio Cultural Inmaterial de la Humanidad. UNESCO, Fecha de aprobación: Noviembre 16, 2010. Consultado: Octubre 26, 2018: <http://www.unesco.org/new/es/mexico/work-areas/culture/intangible-heritage/>
- Valencia, G. F. E., Millán C. L. J., C. A. R. Morales & Y. J. Garcés. 2007. Efecto de sustitutos de grasa en propiedades sensoriales y texturales del queso crema. *Revista Lasallista de Investigación* 4(1): 20-26.
- Van-Hekken, D. L., M. H. Tunick, P. M. Tomasula, F. J. Molina-Corral & A. A. Gardea. 2007. Mexican Queso Chihuahua: rheology of fresh cheese. *International Journal of Dairy Technology* 60(1): 5-12.
- Varming, C., L. T. Andersen, M. A. Petersen and Y. Ardö. 2013. Flavour compounds and sensory characteristics of cheese powders made from matured cheeses. *International Dairy Journal* 30: 19-28.
- Vásquez M., S. M., H. Suarez M. & S. Zapata B. 2009. Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. *Revista Chilena de Nutricional* 36:64-71.
- Vázquez-Fontes, C., E. Sánchez-Vera, O. Castelán-Ortega & A. Espinoza-Ortega. 2010. Microbiological quality of artisan-made mexican botanero cheese in the central highlands. *Journal of Food Safety* 30: 40-50.
- Villegas G, A. & F. Cervantes-Escoto. 2011. La genuinidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales mexicanos. *Estudios Sociales* 19(38): 147-164.
- Villegas G, A., A. S. Moreno & F. C. Escoto. 2016. Los quesos mexicanos tradicionales. Universidad Autónoma Chapingo, México, 206 pp.
- Villegas G., A. Z., O. Lozano-Moreno & F. Cervantes-Escoto. 2015. Valorización de los quesos mexicanos genuinos: conocimiento, degustación,

- acompañamiento y gastronomía. Colegio de Posgraduados, México, 216 pp.
- Villegas G., A., F. Cervantes-Escoto, A. Cesín-Vargas, A. Espinoza-Ortega, A. Hernández-Montes, A. Santos-Moreno & A. R. Martínez-Campos. 2014. Atlas de los quesos mexicanos genuinos. Biblioteca Básica de Agricultura, México, 400 pp.
- Villegas, G. A. 2009. Los quesos mexicanos genuinos: contribución a su rescate a través de la vinculación universidad-productores. Revista Claridades Agropecuarias 191: 29-35.
- Villegas, G. A. 2012. Tecnología quesera. 2ª Ed., Trillas, México, 405 pp.
- Vyhmeister, S., C. Geldsetzer-Mendoza, M. Medel-Marabolí, Fellenberg, A. Fellenberg, E. Vargas-Bello-Pérez, R. A. Ibáñez. 2019. Influence of using different proportions of cow and goat milk on the chemical, textural and sensory properties of chanco–style cheese with equal composition. LWT - Food Science and Technology. In Press.
- Walstra, P., J. T. M. Wouters and Geurts T. J. 2006. Dairy science and technology. 2nd. ed. New York: Taylor & Francis Group, Pp. 687-698.
- Xu, Benjin, L. Liu, L. Liu, X. Li, X. Li & X. Wang. A Multiplex PCR Assay for the Rapid and Sensitive Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Simultaneous Discrimination of *Staphylococcus aureus* from Coagulase-Negative Staphylococci. Journal of Food Science 77(11): 638-642.
- Zamora, R., A. Salvador, C. Alvarado & R. Betancourt. 2011. Producción y composición de la leche y queso fresco pasteurizado de cabras mestizas canarias suplementadas con grasa sobrepasante. Revista de Facultad de Ciencias Veterinaria 52: 39-49.
- Zendejas-Manzo, G. S., H. Avalos-flores & M. Y. Soto-Padilla. 2014. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. Revista biomedical 25: 129-143.

Žolnere K., M. Arnold, B. Casco, D. W. Everett. 2019. Cheese proteolysis and matrix disintegration during in vitro digestion. Food Structure 19(2): In Press.

10. ANEXO

10.1. Análisis microbiológico en quesos

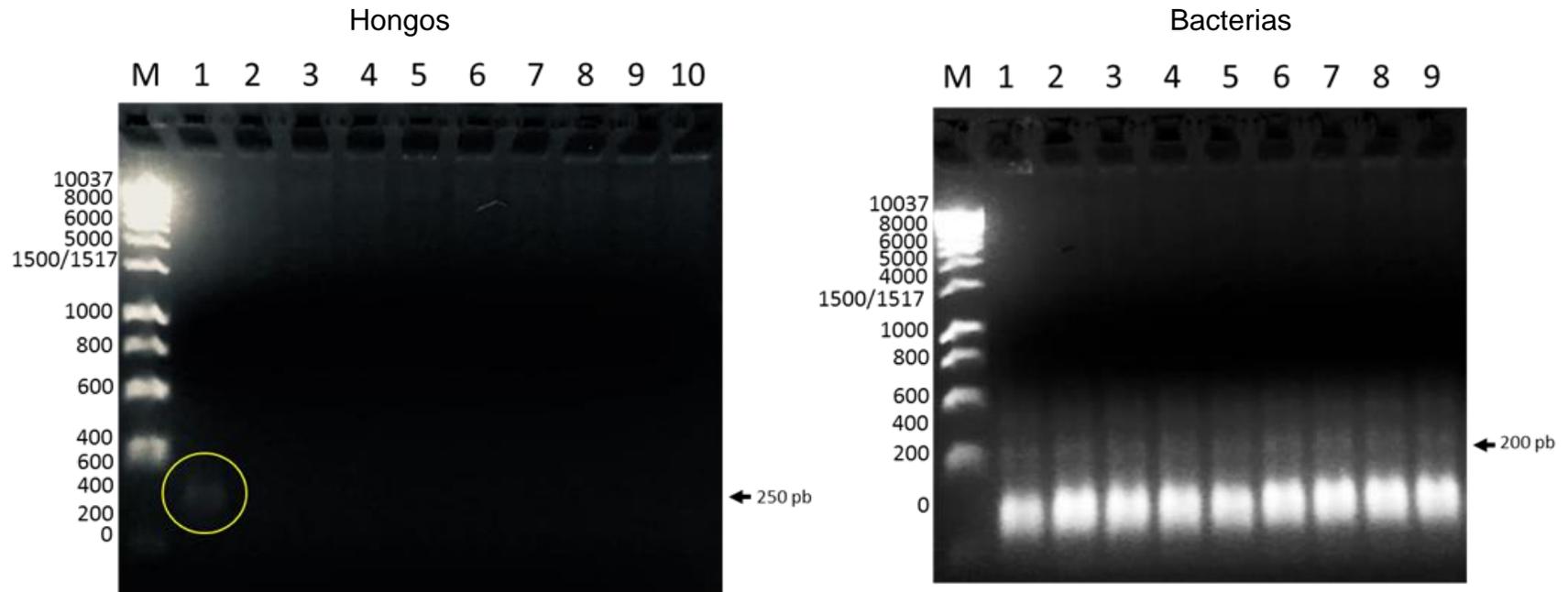


Figura 6. Productos PCR para todos los tratamientos por efecto de temporada para *Hongos*. Gel de agarosa al 1%. M) marcador Hyperladder 1 Kb, 1) Cepa de referencia, 2) 12 semanas, 3) 6 semanas, 4) 3 semanas, 5) 1 semana, 6) vacío, 7) 12 semanas, 8) 6 semanas, 9) 3 semanas, 10) 1 semana.

Productos PCR para todos los tratamientos por efecto de temporada para bacterias. Gel de agarosa al 1%. M marcador Hyperladder 1 Kb, 1) Cepa de referencia, 2) 12 semanas, 3) 6 semanas, 4) 3 semanas, 5) 1 semana, 6) 12 semanas, 7) 6 semanas, 8) 3 semanas, 9) 1 semana.

10.1.1. Electroforesis del ADN extraído

Verificación de ADN extraído

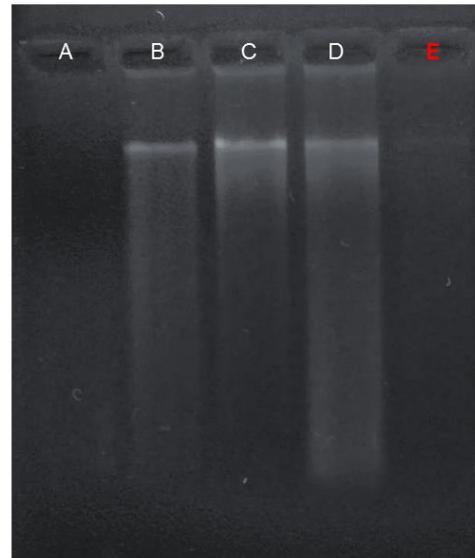
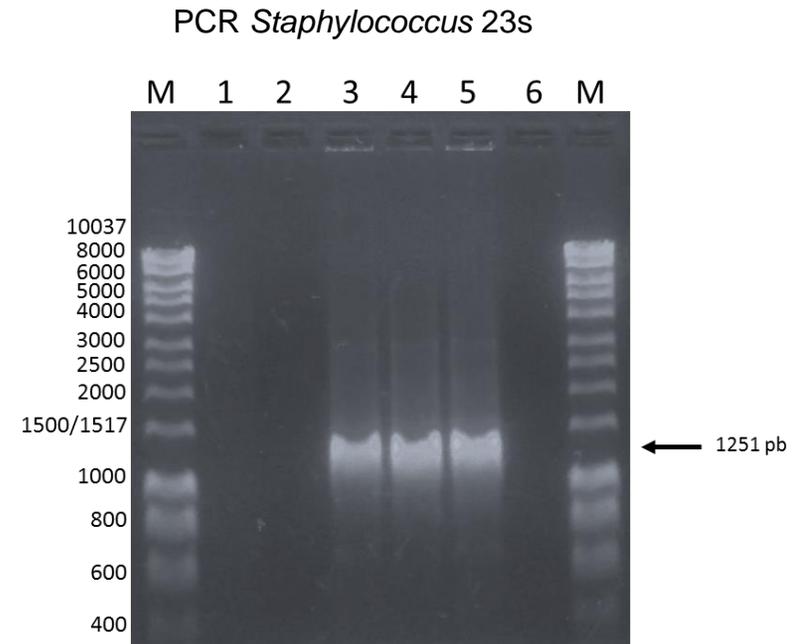


Figura 5. ADN extraído en el transiluminador;

Maduraciones: A. 1 semana, B. 3 semanas, C. 6 semanas y D. 12 semanas.

Maduraciones + E: **Cepa control**



Productos de PCR *Staphylococcus 23s*. Gel de agarosa al 1%. M marcador Hyperladder 1 Kb, 1) control negativo, 2) cepa de referencia, 3) 12 semanas, 4) 6 semanas, 5) 3 semanas y 6) 1 semana.

10.1.2. Análisis bacteriológico de cuajada y leche

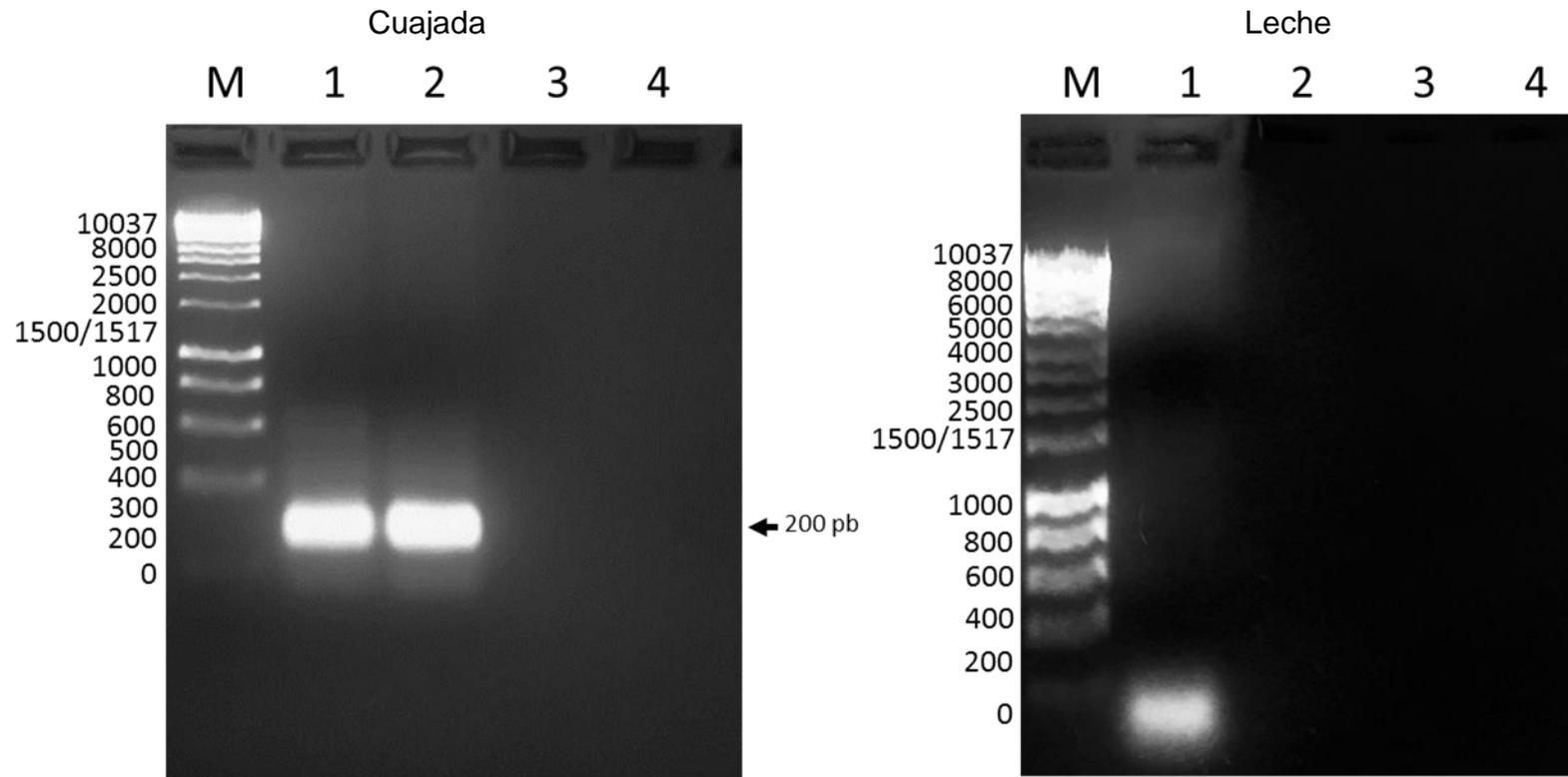


Figura 6. Productos PCR para bacterias. Gel de agarosa al 1%. M) marcador Hyperladder 1 Kb, 1) Cepa de referencia, 2) cuajada.

Productos PCR para bacterias. Gel de agarosa al 1%. M marcador Hyperladder 1 Kb, 1) Leche.

10.2. Trabajos generados



UNIVERSIDAD DEL MAR
 CAMPUS PUERTO ESCONDIDO
 LABORATORIO DE SISTEMAS DE INFORMACIÓN GEOGRÁFICA
 Y SENSORES REMOTOS

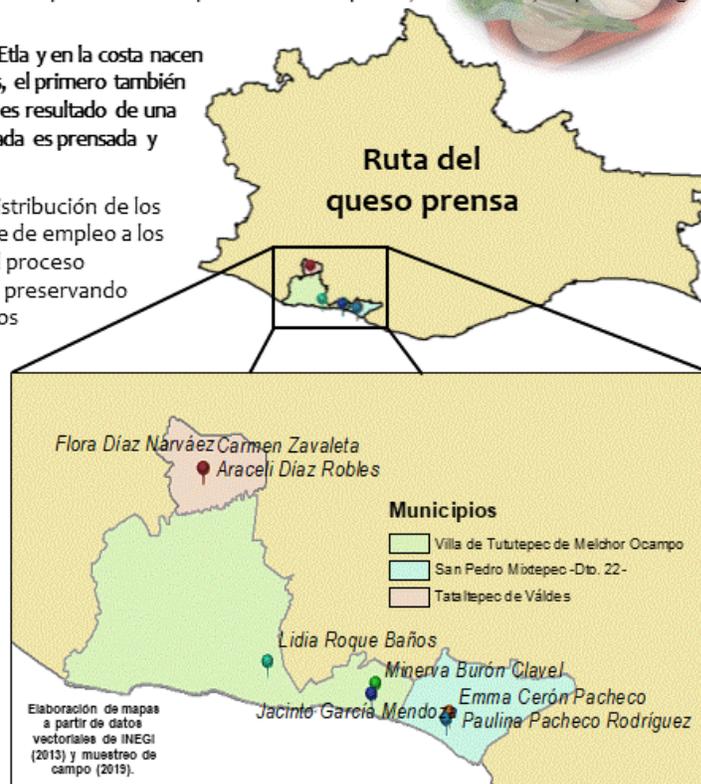


Quesos artesanales en Oaxaca

El queso es un alimento apreciado por el hombre debido a sus cualidades nutritivas y sensoriales. Se ha elaborado a partir de leche de oveja, cabra, vaca u otros ruminantes. Su hechura artesanal ha permitido hasta el día de hoy obtener más de 700 variedades de quesos alrededor del mundo. En México existen 31 tipos de quesos genuinos, de los cuales el queso Cotija de Michoacán, Poro de Tabasco, Tepaltepec de Michoacán, Doble crema y Ocosingo de Chiapas cuentan con protección normativa de Marca colectiva ante el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI). En 2016, la producción de queso en México fue de 751, 370 toneladas con un valor de 28, 830 millones de pesos. Sin embargo, los quesos genuinos que destacan por su volumen producido son el panela, el chihuahua, el tipo manchego y el Oaxaca o quesillo.

En Oaxaca nace el “quesillo” en Reyes Etla y en la costa nacen dos quesos: el fresco y prensa. De estos, el primero también llamado de aro, por el molde utilizado, es resultado de una pasta fresca y el segundo la masa drenada es prensada y madurada hasta por 90 días.

La elaboración, comercialización y distribución de los productos lácteos genera una fuente de empleo a los productores, los cuales conservan el proceso tradicional de elaboración ancestral, preservando sabor, identidad y naturalidad ante los productos análogos. Tal es la competencia de productos alternos que México en 2010 realizó gestiones ante la UNESCO para proteger las expresiones gastronómicas de productores artesanales, anexándose el arte culinario mexicano en la Lista Representativa del Patrimonio Cultural Inmaterial de la Humanidad.



¿Sabías qué...?

Alimentos como el esquite, elotes al vapor, dobladas, tostadas, enfrijoladas, entre otros antojitos de la región son acompañados generalmente con queso prensa producido en la región.

Los quesos artesanales son parte del patrimonio cultural que dan identidad al lugar donde se elaboran. En la costa de Oaxaca se han identificado ocho productores de queso prensa los cuales representan la ruta del queso prensa (Mapa de arriba).

Elaboró: Madrid-Espinosa, K. y Ramos-Gabriel, S.U.

Revisó: M. en C. Gricelda Valera Venegas

Sugerencias y comentarios al correo: labsigumar@hotmail.com

Fuente: Cervantes-Escoto, F., Villegas Gante, A., Cesin Vargas, A. y Espinoza-Ortega, A. (2013). Los quesos Mexicanos Genuinos: Patrimonio Cultural que debe rescatarse. México: Biblioteca Básica de Agricultura. 356 pp.

*Ramos Gabriel, S.U., Herrera-Corredor, J. A., Gamboa-Alvarado, J. G., y Ramírez-Rivera, E. J. (2019). Impact of fermented whey addition on resulting sensory characteristics and consumer preference of ripened cheeses. *Emirates Journal of Food & Agriculture*, 31(4): in Press.

*SIAP (Secretaría de Información Agroalimentaria y Pesca). (2018). Boletín de Leche abril-junio de 2018. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Recuperado el 6 de septiembre de 2018, de <https://www.gob.mx/siap/documentos/boletines-de-leche>

*Teubner, C, Mein Waldburg, H. y Ehler, F. W. (2009). El gran libro del queso: la cocina práctica del queso y una completa enciclopedia ilustrada con fotografías en color. España: Everest. 255 pp.

*UNESCO (Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura). (2018). Patrimonio Inmaterial-Lista Representativa del Patrimonio Cultural Inmaterial de la Humanidad. UNESCO. Fecha de aprobación: Noviembre 16, 2010. Recuperado el 26 de octubre de 2018, de <https://unesco.org/es/representative-list-of-intangible-cultural-heritage/>

*Villegas C., A., Cervantes Escoto, F., Cesin Vargas, A., Espinoza Ortega, A., Hernández-Morales, A., Santos Moreno, A. y Martínez Campos, A. R. (2014). Atlas de los quesos mexicanos genuinos. México: Biblioteca Básica de Agricultura. 400 pp.

RESEARCH ARTICLE

Impact of fermented whey addition on resulting sensory characteristics and consumer preference of ripened cheeses

Saris Ulises Ramos-Gabriel¹, José Andrés Herrera-Corredor², José Guadalupe Gamboa-Alvarado¹, Emmanuel de Jesús Ramírez-Rivera^{3,4*}

¹Universidad del Mar Campus, Campus Puerto Escondido, Oaxaca 71980, México, ²Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, Km. 348 Carretera Federal Córdoba-Veracruz, 94500, Córdoba, Veracruz, México, ³Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico Superior de Zongolica, Km. 4 Carretera S/N Tepetitlanapa. 95005 Zongolica, Veracruz, México, ⁴Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. Sede Sureste, Tablaje Catastral 31264 Km. 5.5 Carretera Sierra Papacal-Chuburna Puerto Parque Científico Tecnológico de Yucatán, 97302. Mérida, Yucatán, México

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the impact of fermented whey on the sensory characteristics of ripened cheeses and consumer preference. Ripened cheeses from 24, 25, 26, 27 and 28 months were characterized. The sensory techniques used were: Quantitative Descriptive Analysis, Temporal Dominance of Sensations and External Preference Mapping. The results showed that the ripened cheeses of 24 to 27 months they were characterized by *white color, acidified milk smell, fat aroma and acidified cream smell*. The cheese of 28 months of ripened was perceived as *fermented milk smell, cow smell and fat smell*. The dominant attributes were *fat aroma, bitter aftertaste, acid aftertaste and salty*. Consumers preferred cheeses from 26 and 27 months of ripening. These results demonstrate the potential use of fermented whey as an alternative to produce ripened cheeses with sensory characteristics and their relation to consumer preference.

Keywords: External preference mapping; Quantitative descriptive analysis; Temporal dominance of sensations

INTRODUCTION

Artisanal cheeses are part of the cultural heritage that give identity to the place where they are made (Villegas et al., 2009). They are also a source of proteins, lipids, vitamins and minerals (Moreno-Rojas et al., 2010). In Europe, the *per capita* consumption of ripened cheeses is 20 kg per year and in Latin America its 2.1 kg per year (Cervantes-Escoto & Villegas, 2014). In 2016, Cheese production in Mexico was 751, 370 ton with a value of 1, 495 million dollars (SIAP, 2017). Whey is one of the by-products derived from the production of cheeses which is discarded to the rivers causing a negative impact (Rebollar-Rebollar et al., 2011; Leizaola, 2011) to the environment. The use of fermented whey with cultures (*Lactococcus lactis* and *Lactococcus cremoris*) can contribute to produce ripened

cheeses at a lower cost and sensory characteristics appealing to consumers (Cuffia et al., 2017). However, in order to understand the impact of using fermented whey in the manufacture of ripened cheeses, is it required to study the following aspects: 1) sensory characterization; 2) sensory behavior in real time of consumption and 3) consumer preference. The aforementioned aspects can be analyzed through the combination of sensometric techniques such as Quantitative Descriptive Analysis (QDA[®]), Temporal Dominance of Sensations (TDS) and External Preference Mapping (PREFMAP) can generate information about the aforementioned aspects (Stone & Sidel, 2004; Pineau et al., 2009; Ramírez-Rivera et al., 2018). Currently there is no evidence of sensometric investigations of ripened cheeses made with fermented whey. The objective of this research was to evaluate the impact of fermented whey

*Corresponding author:

Emmanuel de Jesús Ramírez-Rivera, Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico Superior de Zongolica, Km. 4 Carretera S/N Tepetitlanapa. 95005 Zongolica, Veracruz, México. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. Sede Sureste, Tablaje Catastral 31264 Km. 5.5 Carretera Sierra Papacal-Chuburna Puerto Parque Científico Tecnológico de Yucatán, 97302. Mérida, Yucatán, México. E-mail: eqramirezrivera@itszongolica.edu.mx

Received: 01 March 2019; Accepted: 30 May 2019



IMPACTO DE LA ADICIÓN DE SUERO FERMENTADO EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y SENSORIALES DE QUESOS MADURADOS

[IMPACT OF FERMENTED WHEY ADDITION IN CHARACTERISTICS PHYSICO-CHEMICAL AND SENSORY OF RIPENED CHEESE]

Saris Ulises Ramos-Gabriel¹*, Narciso Ysac Ávila-Serrano¹, Julieta Karina Cruz-Vázquez¹, José Guadalupe Gamboa-Alvarado¹, Emmanuel de Jesús Ramírez-Rivera²

¹Universidad del Mar, Campus Puerto Escondido, Oaxaca 71980, México. ²Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico Superior de Zongolica, Km. 4 Carretera S/N Tepetitlanapa. 95005 Zongolica, Veracruz, México. *Autor para correspondencia: (saris@zicatela.umar.mx).

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto del suero de leche bovina en las características físicoquímicas y sensoriales de un queso a 24, 25, 26, 27 y 28 meses de maduración. La variable físicoquímica evaluada fue pH y de espectrofotometría: L*, b*, C*, h°; las técnicas sensoriales aplicadas fueron: Análisis Cuantitativo Descriptivo (QDA®) y preferencia de consumidor. El potencial de hidrógeno arrojado para quesos madurados fue de 5 a 5.3 pH. El color presentado en los tratamientos fue alto en luminosidad con tonalidades de color amarillo. El estudio sensorial evidenció que los quesos con menor tiempo de maduración se caracterizaron por los términos color blanco, olor vaca, olor leche acidificada, olor leche fermentada, aroma grasa, olor crema acidificada, mientras que los quesos con mayor tiempo de maduración presentaron dominancia en atributos descriptivos como olor leche fermentada, olor vaca, olor leche acidificada, olor grasa y aroma grasa. El estudio hedónico de consumidores reveló que los quesos obtuvieron puntuaciones de “me gusta ligeramente”, lo que indicó que existe un grado de afinidad por productos madurados por el consumidor local. Los resultados obtenidos demuestran el uso potencial del suero fermentado como alternativa para producir quesos con características físicoquímicas y sensoriales únicas a través de la maduración.

Palabras clave: Análisis cuantitativo descriptivo, espectrofotometría, potencial de hidrogeno, preferencia del consumidor.

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to evaluate the effect of bovine whey in the physicochemical and sensory characteristics of a cheese at 24, 25, 26, 27 and 28 months of maturation. The physicochemical variable evaluated was pH and spectrophotometry: L*, b*, C*, h°; The applied sensory techniques were: Quantitative Descriptive Analysis (QDA®) and consumer preference. The hydrogen potential released for matured cheeses was from 5 to 5.3 pH. The color presented in the treatments was high in luminosity with yellow tones. The sensory study evidenced that the cheeses with the shortest ripening time were characterized by the terms white

Introducción

- Quesos Genuinos Mexicanos (QGM):
 Patrimonio cultural
- México: 31 tipos de QGM
 - En Oaxaca: hebra, fresco y prensado
 - De origen artesanal en la Costa: de Aro y prensa
 - Este último genera:
 - Impacto económico, cultural y gastronómico
 - Proceso de elaboración nativo
 - Búsqueda de protección por registro de marca

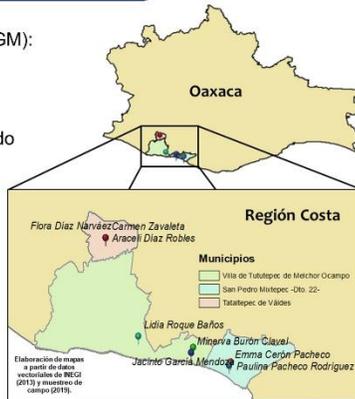


Figura 1. Productores del queso prensa.

Los objetivos de este trabajo ayudaron a caracterizar al queso prensa artesanal madurado de Tataltepec de Valdés, Oaxaca, permitiendo conocer sus aspectos fisicoquímicos, bromatológicos, microbiológicos y sensoriales.

Materiales y métodos

Evaluación	Laboratorio	Variables/Equipo	Materia prima
Fisicoquímica	LTPP	pH Hanna HI99163 Color X-rite HI SP60	Tataltepec de Valdés distrito de Juquila, Oaxaca, México 27 °C con 60% H. R.
Microbiología	Laboratorio Genética	Extracción de ADN PCR DGGE	Bovinos Certificado de hato libre de brucela y tuberculosis Genotipo 1/4 suizo 3/4 cebú Forrajes producidos en la región: * Pastoreo extensivo * Agua Ad libitum
Sensorial	Aula 26	125 consumidores	
Bromatología	LaactoLab	Valoración nutricional	Alimentación

Fuente de variación		Diseño experimental	Proceso estadístico	Evaluación	Variables
Temporada	Lluvias				
Maduración	1 semana	Completamente aleatorizado y ACP	ANVA	Fisicoquímico	pH: Potencial de hidrogeno L*: Luminosidad a*: Intensidad al color rojo c*: Intensidad al color amarillo C: Saturación o pureza del color H*: Angulo matiz de tonalidad
	3 semanas				
	6 semanas				
	12 semanas				
					MS: Materia Seca H: Humedad C: Cenizas CH: Carbohidratos P: Proteína G: Grasa EURE: Extracto etéreo sobre extracto seco Ca: Calcio K: Potasio
					Microbiológico PCR Presencia y ausencia Staphylococcus aureus ATCC® 43300™
					DGGE: Bacterias y hongos
					Sensorial Análisis de consumidores

Figura 2. Efecto del tiempo de maduración.

Referencias

Ramos-Gabriel, S. U., J. A. Herrera-Corredor, J. G. Gamboa-Alvarado & E. J. Ramírez-Rivera. 2019. Impact of fermented whey addition on resulting sensory characteristics and consumer preference of ripened cheeses. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 32(6): 449-458.
 Villegas G., A., A. S. Moreno & F. C. Escoto. 2016. Los quesos mexicanos tradicionales. Universidad Autónoma Chapingo, México, 206 pp.
 Villegas G., A. 2009. Los quesos mexicanos genuinos: contribución a su rescate a través de la vinculación universidad-productores. *Revista Claridades Agropecuarias* 191: 29-35.

Resultados y discusión

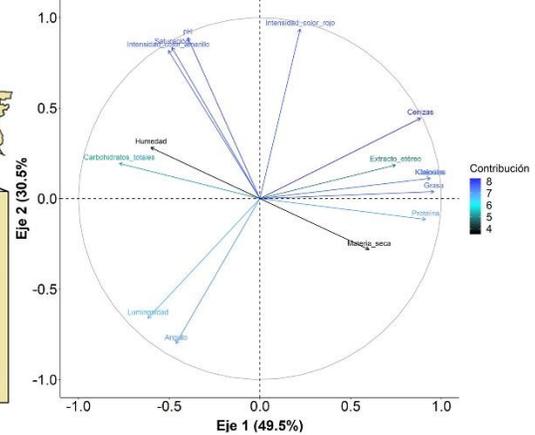


Figura 3. Análisis de componentes principales en variables fisicoquímicas y bromatológicas.

La figura 4 permite entender que a mayor tiempo de maduración significativa es la carga bacteriana contenida en el queso. Los cuales son predecesores de atributos sensoriales agradables y discriminantes al consumidor.



Figura 4. Dendrograma diversidad bacteriana en la maduración del queso. Cepa: *Staphylococcus aureus* (ATCC® 43300™).

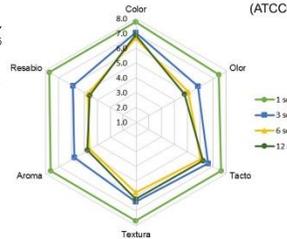


Figura 5. Gráfico radial de comportamiento del consumidor ante el producto evaluado.

La figura 5 los catadores locales diferenciaron el queso fresco de los madurados, teniendo mejor aceptación una y tres semana de maduración. No obstante, el queso a doce semanas tuvo mas preferencia que su homologa a seis semanas. Lo antes mencionado puede estar en relación a la nula presencia de quesos madurados en la región, poco uso de los sentidos al degustar un alimento y el uso de un panel no entrenado (Ramos-Gabriel et al. 2019).

Conclusión

La presente investigación permitió conocer las propiedades cuantitativas y descriptivas del queso a través de una tipificación. El queso evaluado cumple criterios normativos, lo cual servirá de soporte para gestionar una denominación de origen o marca colectiva por parte de los productores.

Agradecimientos

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada. De igual modo un reconocimiento a la Universidad del Mar y a Quesos Don Conrado® de Araceli Díaz Robles por el apoyo durante la vinculación.