



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
POSGRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

**CARACTERIZACIÓN MOLECULAR, METABOLÓMICA Y
DETERMINACIÓN DE ATRIBUTOS INTANGIBLES DEL QUESO
SECO ENCERADO**

TESIS

**Que como requisito parcial para obtener el grado de:
DOCTORA EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS**

Presenta:

M. C. VALERIA MARTÍNEZ AQUINO

Bajo la supervisión de: ARTURO HERNÁNDEZ MONTES, PH. D.



Chapingo, Estado de México, enero de 2026



APROBADA

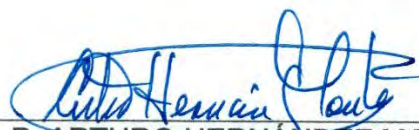


**CARACTERIZACIÓN MOLECULAR, METABOLÓMICA Y
DETERMINACIÓN DE ATRIBUTOS INTANGIBLES DEL QUESO
SECO ENCERADO**

Tesis realizada por **M. C. Valeria Martínez Aquino**, bajo la supervisión del comité asesor indicado, aprobada por el misma y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

DIRECTOR



PH. D. ARTURO HERNÁNDEZ MONTES

ASESOR



DR. ANASTACIO ESPEJEL GARCÍA

ASESOR



DRA. BLANCA E. HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ

LECTOR EXTERNO



DRA. ALMA LETICIA SAUCEDO YÁÑEZ

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
ABREVIATURAS	x
AGRADECIMIENTOS	xii
DEDICATORIAS	xiii
DATOS BIOGRÁFICOS	xiv
RESUMEN GENERAL	xv
GENERAL ABSTRACT	xvi
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.1. Objetivo general	2
1.2. Objetivos específicos	2
1.3. Hipótesis de investigación	3
1.4. Organización de la tesis	3
1.5. Literatura citada	6
2. REVISIÓN DE LITERATURA	7
2.1. Marco teórico	7
2.1.1. Quesos tradicionales	7
2.1.2. Quesos tradicionales mexicanos	8
2.1.3. Uso de la espectroscopía en el análisis de los quesos tradicionales	12
2.1.3.1. Espectroscopía de infrarrojo cercano (NIR)	13
2.1.3.2. Espectroscopía de infrarrojo medio (MIR)	14
2.1.4. Cambios durante la maduración del queso	15
2.1.5. Proteólisis y catabolismo de aminoácidos	16
2.1.6. Lipólisis	17

2.1.7. Glucólisis	18
2.1.8. Cambios sensoriales durante la maduración de los quesos	20
2.1.9. Análisis de consumidores en quesos tradicionales	20
2.1.10. Preferencias de consumidores	21
2.1.11. Experimentos de elección discreta	22
2.2. Marco de referencia	23
2.2.1. Producción láctea en México	23
2.2.2. Producción láctea en Oaxaca	24
2.3. Literatura citada.....	26
3. EVALUATION OF MATURATION CHANGES IN THE HANDCRAFTED WAXED DRY CHEESE FROM SOUTHERN MEXICO USING INFRARED SPECTROSCOPY AND CHEMOMETRICS: PROSPECTIVE TOOLS FOR ADDING VALUE TO LOCAL PRODUCTS*	35
3.1. Summary	36
3.2. Materials and methods	39
3.2.1. Sample collection.....	39
3.2.2. FT-NIR and physical-chemical analysis	39
3.2.3. Statistical analysis of FT-NIR data	40
3.2.4. FT-IR-ATR spectroscopic analysis.....	40
3.2.5. FT-IR-ATR data preprocessing	40
3.3. Results and discussion.....	41
3.3.1. FT-NIR and physicochemical analysis of waxed dry cheese	41
3.3.2. FT-IR-ATR spectroscopic analysis of waxed dry cheese	45
3.3.3. Partial least squares – discriminant analysis (PLS-DA)	48
3.4. Conclusion.....	54
Supplementary material.	55

Acknowledgements.	55
Conflict of interest.....	55
Author contributions.	55
3.5. References	56
4. DINÁMICA DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DURANTE LA MADURACIÓN Y SU EFECTO SOBRE EL PERFIL SENSORIAL DEL QUESO SECO ENCERADO DE OAXACA, MÉXICO ^b	65
4.1. Introducción.....	67
4.2. Materiales y métodos	70
4.2.1. Objeto de estudio.....	70
4.2.2. Obtención del extracto soluble en agua.....	71
4.2.3. Determinación de proteína soluble	71
4.2.4. Determinación del grado de hidrólisis	72
4.2.5. Determinación de actividad enzimática.....	73
4.2.5.1. Determinación de actividad proteasa	73
4.2.5.2. Determinación de actividad lipasa.....	74
4.2.5.3. Determinación de actividad esterasa	75
4.2.6. Distribución de pesos moleculares	75
4.2.7. Análisis descriptivo del queso Seco Encerado	76
4.2.8. Análisis estadístico de datos.....	78
4.3. Resultados y discusión.....	78
4.3.1. Determinación de proteína soluble	78
4.3.2. Determinación del grado de hidrólisis.....	80
4.3.3. Determinación de actividad enzimática.....	81
4.3.4. Distribución de pesos moleculares	84
4.3.5. Análisis descriptivo del queso Seco Encerado	85

4.4. Conclusiones.....	87
4.5. Literatura citada.....	89
5. CONSUMER PREFERENCES AND ECONOMIC VALUATION OF A TRADITIONAL MEXICAN CHEESE USING DISCRETE CHOICE EXPERIMENTS [®]	95
5.1. Introduction.....	96
5.2. Methodology.....	98
5.2.1. Sample of consumers	98
5.2.3. Discrete choice experiment design (DCE)	99
5.2.3.1. Attribute and level selection	99
5.2.3.2. Selection of combinations	100
5.2.4. Survey design	101
5.2.5. Data analysis	102
5.2.5.1. Discrete choice experiment and willingness to pay for “Seco Encerado” cheese	102
5.2.5.2. Latent class logit model.....	103
5.3. Results and discussion.....	104
5.3.1. Sociodemographic characteristics of the sample.....	104
5.3.2. Mixed logit model on the valuation attributes of “Seco Encerado” cheese	105
5.3.3. Valuation attributes and willingness to pay	108
5.4. Conclusions.....	112
5.5. References	114
6. CONCLUSIONES GENERALES	118

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación y características de quesos tradicionales mexicanos....	9
Cuadro 2. Table 1. FT-NIR physicochemical analysis of waxed dry cheese produced in four different artisanal cheese dairies (A-D) in Oaxaca, Mexico....	44
Cuadro 3. Descripción de los atributos que fueron identificados por los panelistas mediante la técnica de Perfil Flash.	77
Cuadro 4. Table 1. Selection of attributes for the survey using discrete choice experimental methodology.....	100
Cuadro 5. Table 2. Example of purchasing alternatives presented in the survey	101
Cuadro 6. Table 3. Descriptive statistics of the main sociodemographic variables reported by in the study (n = 355).	104
Cuadro 7. Table 4. Analysis of variance of the logistic regression model used.	106
Cuadro 8. Table 5. Consumer preferences and WTP for “Seco Encerado” cheese.	108
Cuadro 9. Table 6. Consumer ranking profiles and WTP (\$ MXN) for different attributes of “Seco Encerado” cheese.....	109
Cuadro 10. Table 7. Sociodemographic characterization of consumer groups.	110

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Rutas metabólicas de la proteólisis desarrollada durante la maduración del queso (Zhao et al., 2025).	16
Figura 2. Rutas metabólicas de la lipólisis desarrollada durante la maduración del queso (Zhao et al., 2025).	17
Figura 3. Rutas metabólicas de la glucólisis desarrollada durante la maduración del queso (Zhao et al., 2025).	19
Figura 4. Figure 1. FT-IR-ATR selected spectra of waxed dry cheese at two ripening times: 7 days (—) and 30 days (—). Most relevant bands were assigned according to different functional groups.	48
Figura 5. Figure 2. PLA-DA of FT-IR-ATR data of waxed dry cheese. a) accumulated variance contributions plot for each component in the PLS-DA model: number of model components (●) and model accumulated variance days (●); b) first derivative of variance cumulative contributions showing the inflection point (slope change) at principal component number 3; c) 3D score plot of the PLS-DA model at 7 days (●) and 30 days (●) of ripening; and, d) 3D loading plot of the PLS-DA model, the marker became reddish as its contribution to differentiate groups increase.	51
Figura 6. Figure 3. VIP score plot (high; low) from the first three principal components used in the PLS-DA analysis, T1 (7 days) and T2 (30 days); a) VIP scores for the first principal component; b) VIP scores for the second principal component; and c) VIP scores for the second principal component; and c) VIP scores for the third principal component	53
Figura 7. Figure SM1. PCA from FT-IR-ATR data of waxed dry cheese. Exploratory plots obtained from the principal component analysis (PCA) model in MetaboAnalyst. a) Contributions calculated for each component in the PCA; b)	

Cumulative variance plot for the PCA model; c) PCA loadings plot; y d) PCA three-dimensional scores plot.	62
Figura 8. Figure SM2. Permutation test plots of the PLS-D model, using B/W separation distance, and set permutation numbers of a) 100 and b) 1000. As the distribution extends further to the right, the separation between the two groups becomes increasingly significant with p-value <0.01 and <0.001, respectively. 63	
Figura 9. Figure SM3. Plots obtained from the PLS-DA model: Dendrogram and Heatmap of FT-IR-ATR spectra of dry waxed cheese samples in the PLS-DA. 64	
Figura 10. Determinación de proteína soluble en extractos acuosos de queso Seco Encerado.	80
Figura 11. Determinación del grado de hidrólisis (%) en extractos acuosos de queso Seco Encerado.....	81
Figura 12. Actividad enzimática (proteasa, lipasa y esterasa) en extractos acuosos de queso Seco Encerado.	83
Figura 13. SDS-Page, de las proteínas solubles presentes en los extractos acuosos del queso Seco Encerado durante el periodo de maduración.	85
Figura 14. Mapa de dos dimensiones del perfil sensorial rápido del queso Seco Encerado.	86

ABREVIATURAS

a. C.: Antes de Cristo

AG: Ácidos Grasos; AGL: Ácidos Grasos Libres

Aw: Actividad de Agua (por sus siglas en inglés, *Water Activity*)

BAL: Bacterias Ácido Lácticas

BSA: Albúmina Sérica Bovina (por sus siglas en inglés, *Bovine Serum Albumin*)

CATA: Marca Todo lo que Corresponda (por sus siglas en inglés, *Check All That Apply*)

d: días

DCE: Experimentos de Elección discreta (por sus siglas en inglés, *Discrete Choice Experiment*)

DOP o PDO: Denominación de Origen Protegida (por sus siglas en inglés, *Protected Designation of Origin*)

EC: Comisión de Enzimas (por sus siglas en inglés, *Enzyme Commission*)

ETG: Especialidades Tradicionales Garantizadas

EMP: Embden-Meyerhof-Parnas (Ruta metabólica)

H. R.: Humedad Relativa

FIR: Infrarrojo Lejano (por sus siglas en inglés, *Far Infrared*)

FT-IR-ATR: Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier con Reflexión Total Atenuada (por sus siglas en inglés, *Fourier Transform Infrared – Attenuated Total Reflectance*)

FT-MIR: Espectroscopía de Infrarrojo Medio por Transformada de Fourier (por sus siglas en inglés, *Fourier Transform Mid Infrared*)

FT-NIR: Espectroscopía de Infrarrojo Cercano por Transformada de Fourier (por sus siglas en inglés, *Fourier Transform Near Infrared*)

GH: Grado de Hidrólisis

IGP: Indicación Geográfica Protegida

kDa: kilodalton

LCLM: Modelo de Clases Latentes (por sus siglas en inglés, *Latent Class Logit Model*)

min: minutos

ML: Modelos Lineales

MNX: Pesos Mexicanos

MIR: Infrarrojo Medio (por sus siglas en inglés, *Mid Infrared*)

NFS: Sólidos no grasos (por sus siglas en inglés, *Non Fatty Solids*)

NIR: Infrarrojo Cercano (por sus siglas en inglés, *Near Infrared*)

NMR: Resonancia Magnética Nuclear (por sus siglas en inglés, *Nuclear Magnetic Resonance*)

pNF: p-nitrofenol

pNFB: p-nitrofenil butirato

pNPP: p-nitrofenil palmitato

PCA: Análisis de Componentes Principales (por sus siglas en inglés, *Principal Component Analysis*)

PLS-DA: Análisis Discriminante por Mínimos Cuadrados Parciales (por sus siglas en inglés, *Partial Least Squares – Discriminant Analysis*)

PM: Peso Molecular

SDS-PAGE: Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (por sus siglas en inglés, *Sodium Dodecyl Sulfate – Polyacrylamide Gel Electrophoresis*)

SECIHTI: Secretaría de Educación, Ciencia, Tecnología e Innovación

T: Temperatura

TNBS: Trinitrobenzenesulfonic Acid

TS: Sólidos Totales (por sus siglas en inglés, *Total Solids*)

UV-vis: Ultravioleta-visible

VIP: Importancia de la Variable en la Proyección (por sus siglas en inglés, *Variable Importance in Projection*)

WTP: Disposición a pagar (por sus siglas en inglés, *Willingness To Pay*)

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación, por el financiamiento otorgado para la realización y culminación de mis estudios de posgrado.

A mi *alma mater*, la Universidad Autónoma Chapingo, la Dirección General de Investigación y Posgrado y al Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, por las facilidades brindadas para realizar y culminar esta investigación.

A mi director y mentor, el Dr. Arturo Hernández Montes y a mis asesores, Dra. Blanca y Dr. Anastacio, por su indispensable apoyo brindado en cada una de las fases de esta investigación.

Al Dr. Luis Guerrero, Dra. Oxana Lazo, Dra. Anna Claret Comma, Dra. Belén Martín Juárez y toda la familia IRTA por abrirme las puertas y recibirme en el *Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries* para realizar mi estancia de investigación.

A la Dra. Alma L. Saucedo Yáñez, por su asesoría y guía en el mundo de la espectroscopía.

A la Dra. Edna E. Suárez Patlán, por su apoyo y consejos en el desarrollo de esta investigación.

A la Dra. Verenice Torres Salas, por sus invaluable aportaciones en el desarrollo de esta investigación.

A los productores y consumidores de Queso Seco Encerado, por su disponibilidad de participar en la investigación.

DEDICATORIAS

A Dios, por darme la sabiduría, la paciencia y la perseverancia necesarias para culminar este proyecto.

A mi familia, por su apoyo incondicional, por enseñarme el valor del esfuerzo, la perseverancia y el amor que sostiene incluso en los momentos más difíciles. Gracias por ser mi fuerza silenciosa y constante en cada paso de este camino.

A mi mentor, con quien comencé este camino en el lejano 2013. Su guía ha marcado profundamente mi vida, enseñándome no solo a investigar, sino a creer en mí.

A mis amigos, por su compañía durante este proceso.

A todas las personas que, de manera directa o indirecta, contribuyeron a la realización de este trabajo.

“Así como el queso madura lentamente para revelar su esencia más profunda, esta tesis se forjó con paciencia y dedicación, transformando cada dato en conocimiento y cada análisis en un legado que honra la pasión por aprender y al incansable trabajo de los queseros tradicionales Oaxaqueños”

Valeria

“Nada en la vida debe ser temido, solo comprendido. Ahora es el momento de comprender más, para temer menos”

Marie Curie (1867-1934)

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre:	Valeria Martínez Aquino
Fecha de nacimiento:	04 de mayo de 1994
Lugar de nacimiento:	Santo Domingo Zanatepec, Oaxaca
CURP:	MAAV940504MOCRQL01
Profesión:	Maestro en Ciencias en Tecnología Agroalimentaria
Cedula profesional:	12433200

Desarrollo académico

Maestría:	Universidad Autónoma Chapingo
Licenciatura:	Universidad Autónoma Chapingo

RESUMEN GENERAL

Caracterización molecular, metabolómica y determinación de atributos intangibles del queso Seco Encerado^o

México posee una gran cultura quesera, en todo el país se elaboran diversos tipos de quesos, cada uno tiene diferentes características químicas y sensoriales. En esta investigación se estudió al queso Seco Encerado, producido con leche cruda de vaca en el Istmo de Tehuantepec, Oaxaca. Este producto representa un símbolo gastronómico y cultural, sin embargo, carece de estudios que describan sus atributos químicos, sensoriales y de mercado, lo que limita su valorización y protección. El objetivo de esta investigación fue evaluar los cambios en el queso Seco Encerado durante el periodo de maduración (7 y 30 d), a través de técnicas bioquímicas y ómicas, determinar los atributos intangibles y sensoriales que influyen en la preferencia del producto por parte de los consumidores con el propósito de impulsar su valorización y posicionamiento en el mercado. Se evaluaron los cambios durante la maduración mediante espectroscopía infrarroja (FT-NIR y FT-IR-ATR), aplicando análisis quimiométrico (PCA y PLS-DA). Se identificaron modificaciones en bandas de amidas, ácidos grasos, agua y carbohidratos, asociadas a procesos de proteólisis, lipólisis y glucólisis, obteniendo la huella digital del queso. Posteriormente se determinaron las variables: proteína soluble, grado de hidrólisis y actividades enzimáticas (proteasa, lipasa y esterasa) y el perfil sensorial, identificando incrementos en las variables, relacionados con el tiempo de maduración. El Perfil *Flash* reveló atributos diferenciadores entre queserías, como sabor salado, textura desmoronable, aromas y sabores ácidos. Finalmente, se exploraron las preferencias y disposición a pagar de los consumidores mediante experimentos de elección discreta. Los atributos valorados fueron: origen, proceso artesanal, tiempo de maduración y etiquetado informativo, confirmando el potencial del producto para generar valor y fortalecer economías locales. Este estudio aporta evidencia científica y herramientas estratégicas para la autenticación, diferenciación y posicionamiento comercial del queso Seco Encerado, fortaleciendo el desarrollo territorial y reservando el patrimonio alimentario mexicano.

Palabras claves: queso Seco Encerado, maduración, espectroscopía infrarroja, perfil sensorial, preferencias del consumidor.

^oTesis Doctoral en Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: M. C. Valeria Martínez Aquino

Director de Tesis: Arturo Hernández Montes, Ph.D.

GENERAL ABSTRACT

Molecular and metabolomic characterization and determination of intangible attributes of *Seco Encerado* Cheese^o

Mexico has a rich cheese-making tradition; throughout the country, various types of cheese are produced, each with unique chemical and sensory characteristics. This research focused on *Seco Encerado* cheese, made from raw cow milk in the Isthmus of Tehuantepec, Oaxaca. This product represents a gastronomic and cultural symbol; however, it lacks studies describing its chemical, sensory, and market attributes, which limits its valorization and protection.

The objective of this study was to evaluate changes in *Seco Encerado* Cheese during the ripening period (7 and 30 d) using biochemical and omics techniques, and to determine intangible and sensory attributes that influence consumer preference, with the purpose of promoting its valorization and market positioning. Ripening changes were assessed through infrared spectroscopy (FT-NIR and FT-IR-ATR) combined with chemometric analysis (PCA and PLS-DA). Modifications were identified in amide, fatty acid, water, and carbohydrate bands, associated with proteolysis, lipolysis, and glycolysis processes, resulting in the cheese's chemical fingerprint.

Subsequently, soluble protein, degree of hydrolysis, enzymatic activities (protease, lipase, and esterase), and sensory profile were determined, revealing increases in these variables related to ripening time. The Flash Profile technique highlighted differentiating attributes among cheesemakers, such as salty taste, crumbly texture, and acidic aromas and flavors. Finally, consumer preferences and willingness to pay were explored through discrete choice experiments. Valued attributes included origin, artisanal process, ripening time, and informative labeling, confirming the product's potential to generate value and strengthen local economies.

This study provides scientific evidence and strategic tools for the authentication, differentiation, and commercial positioning of *Seco Encerado* cheese, fostering territorial development and preserving Mexico's food heritage.

Keywords: *Seco Encerado* cheese, ripening, infrared spectroscopy, sensory profile, consumer preferences.

^oDoctoral Thesis en Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo
Author: M. C. Valeria Martínez Aquino
Advisor: Arturo Hernández Montes, Ph.D.

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

En 2024, la producción mundial de leche alcanzó los 982 millones de toneladas, siendo la Unión Europea la principal región productora con 146 millones de toneladas. México ocupó el noveno lugar, con aproximadamente 13.5 millones de toneladas (Statista, 2024b). Entre los derivados más importantes de la leche se encuentra el queso, un producto lácteo fermentado cuya elaboración y consumo se remonta a los 6000 a. C. (Kindstedt, 2017). Actualmente, la producción global de queso ronda los 22 millones de toneladas (Statista, 2024a). En México, durante 2022, se produjeron cerca de 452,000 toneladas, de las cuales el 75 % (339,000 t) corresponde a producción artesanal y el 25 % (113,000 t) a producción industrial. La elaboración artesanal incluye principalmente 60 variedades de quesos tradicionales en territorio nacional (Reyes-Díaz et al., 2025), entre los cuales alrededor de 20 son quesos madurados.

Los quesos madurados se distinguen por las condiciones específicas del proceso, que incluyen a la temperatura, la humedad relativa y las modificaciones controladas en las concentraciones de O_2 , CO_2 y NH_3 . Estos factores influyen en la composición y diversidad del microbioma del queso, cuyas características y actividad determinan la calidad y propiedades sensoriales del producto (Almena-Aliste & Mietton, 2014). Durante la maduración ocurren diversos procesos bioquímicos, entre ellos: proteólisis, que consiste en la hidrólisis de proteínas por acción de las enzimas proteolíticas, produciendo péptidos y aminoácidos; lipólisis, es el proceso donde los triglicéridos se hidrolizan en ácidos grasos libres (AGL) que aportan sabor; y glucólisis, proceso en el cual la lactosa se transforma en ácido láctico por acción de bacterias lácticas (Luo et al., 2024).

Esta investigación se centra en el queso Seco Encerado, es un producto tradicional elaborado de manera artesanal con leche cruda de vacas de raza cebú

(*Bos taurus indicus*), cuajo natural extraído del rumen bovino, sal de mar y otros insumos nativos de la región del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca. Las piezas de queso tienen un peso de 8 a 10 kg y se someten a un proceso de maduración bajo condiciones ambientales típicas de la región, altas temperaturas ($>35^{\circ}\text{C}$) y alta humedad relativa ($>70\%$), durante al menos un mes. Posteriormente, el queso se recubre con una capa de cera o parafina, lo que le confiere su nombre Seco Encerado. Este producto no solo es un ingrediente en diversos platillos típicos de la región como es el puré de papas istmeño al horno, además es complemento muy importante en la gastronomía de la región. El queso Seco Encerado representa una significativa fuente de ingresos para los productores y comercializadores locales (Martínez-Aquino, et al., 2025a; Martínez-Aquino, et al., 2025b). A pesar de su relevancia cultural y económica, existen escasos estudios que lo analicen de manera integral desde perspectivas fisicoquímicas, bioquímicas, sensoriales y económicas. Por ello, en la presente investigación se plantean los siguientes objetivos.

1.1. Objetivo general

Evaluar los cambios en el queso Seco Encerado durante el periodo de maduración (7 y 30 d), a través de técnicas fisicoquímicas y bioquímicas, así como, determinar los atributos intangibles y sensoriales que influyen en la preferencia del producto por parte de los consumidores con la finalidad de generar una dinámica de valorización del producto.

1.2. Objetivos específicos

- i) Evaluar los cambios químicos en el queso Seco Encerado durante su maduración, utilizando técnicas espectroscópicas de infrarrojo medio y cercano.
- ii) Evaluar la actividad enzimática producida por proteasas, esterasas y lipasas presentes durante el proceso de maduración del queso Seco Encerado, así como, identificar los atributos sensoriales que describen al queso Seco Encerado, mediante técnicas de perfil descriptivo.

iii) Determinar la disposición a pagar y valoración por el queso Seco Encerado, por parte de los consumidores mediante la técnica de experimentos de elección discreta utilizando como atributos de valoración: origen, tipo de proceso, tiempo de maduración, etiqueta y precio, con el propósito de explorar las percepciones de los consumidores por el queso Seco Encerado.

1.3. Hipótesis de investigación

El proceso de maduración del queso Seco Encerado bajo condiciones ambientales del Istmo de Tehuantepec ($T > 35^{\circ}\text{C}$ y $\text{H.R.} > 70\%$), genera cambios significativos en la composición bioquímica y atributos sensoriales del queso. Estos atributos combinados con factores culturales y de autenticidad, determinan la percepción de calidad y la disposición a pagar por parte de los consumidores.

1.4. Organización de la tesis

La presente tesis se estructura de seis capítulos, los cuales se describen a continuación.

Capítulo I: Introducción general

Este capítulo presenta el contexto de la investigación desarrollada en el marco del Doctorado en Ciencias Agroalimentarias. Se expone la relevancia de los quesos tradicionales y madurados, destacando la importancia cultural y económica del queso Seco Encerado en la región del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca. Finalmente, se definen los objetivos generales y específicos que orientan el estudio.

Capítulo II: Revisión de literatura

Se desarrolla una extensa revisión de literatura, organizada en dos apartados: el marco teórico, donde se abordó el estado del arte sobre quesos tradicionales, procesos de maduración, técnicas espectroscópicas, análisis sensorial y de consumidores; por otra parte, el marco de referencia describió la situación actual

de la producción láctea en México y en Oaxaca, región de origen del queso estudiado.

Capítulo III: “*Evaluation of maturation changes in the handcrafted waxed dry cheese from Southern Mexico using infrared spectroscopy and chemometrics: prospective tools for adding value to local products*”

Se presenta el artículo publicado bajo el mismo nombre, en el cual se evaluaron los cambios fisicoquímicos durante la maduración del queso Seco Encerado mediante espectroscopía infrarroja (FT-NIR y FT-IR-ATR) y análisis quimiométrico (PCA y PLS-DA), obteniendo la huella digital química del queso. Este artículo se encuentra publicado en *Journal of Dairy Research*, revista editada por Cambridge University (<https://doi.org/10.1017/S0022029925101325>).

Capítulo IV: Dinámica de la actividad enzimática durante la maduración y su efecto sobre el perfil sensorial del queso Seco Encerado de Oaxaca, México

En este capítulo se analizó la maduración del queso mediante la determinación de la proteína soluble y el grado de hidrólisis, se determinó la actividad de enzimas (proteasas, lipasas y esterasas) y para corroborar los efectos de la maduración del queso se aplicaron técnicas como SDS-PAGE. Además, se describieron los atributos sensoriales del queso mediante el método de Perfil *Flash*.

Capítulo V: “*Consumer preferences and economic valuation of a traditional Mexican cheese using discrete choice experiments*”

Se presenta el artículo publicado bajo el mismo nombre, en el cual se estudiaron las preferencias y la disposición a pagar por el queso Seco Encerado, mediante la técnica de experimentos de elección discreta, se consideraron los siguientes atributos: origen, proceso artesanal, tiempo de maduración y etiquetado. Este artículo se encuentra publicado en la *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* (<https://doi.org/10.22319/rmcp.v16i3.6856>)

Capítulo VI Conclusiones generales

Como sección final de la tesis, este capítulo resume los hallazgos más relevantes, destacando la importancia de la caracterización fisicoquímica, sensorial y económica para la valorización y posicionamiento comercial del queso Seco Encerado.

1.5. Literatura citada

- Almena-Aliste, M., & Mietton, B. (2014). Cheese Classification, Characterization, and Categorization: A Global Perspective. In *Cheese and Microbes* (pp. 39–71). ASM Press. <https://doi.org/10.1128/9781555818593.ch3>
- Kindstedt, P. S. (2017). The History of Cheese. In *Global Cheesemaking Technology* (First Ed., pp. 1–19). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119046165.ch0a>
- Luo, H., Akkermans, S., Verheyen, D., Wang, J., Polanska, M., & Van Impe, J. F. M. (2024). Tuning and modeling cheese flavor. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 23(5). <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13420>
- Martínez-Aquino, V., Hernández-Montes, A., & Espejel García, A. (2025a). Consumer preferences and economic valuation of a traditional Mexican cheese using discrete choice experiments. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 16(3), 610–629. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v16i3.6856>
- Martínez-Aquino, V., Suárez-Patlán, E. E., Espejel-García, A., Hernández-Montes, A., & Saucedo, A. L. (2025b). Evaluation of maturation changes in the handcrafted waxed dry cheese from Southern Mexico using infrared spectroscopy and chemometrics: prospective tools for adding value to local products. *Journal of Dairy Research*, 92(1), 1–10. <https://doi.org/10.1017/S0022029925101325>
- Reyes-Díaz, R., Méndez-Romero, J. I., Reyes-Díaz, A., Cuevas-González, P. F., Beltrán-Barrientos, L. M., Santiago-López, L., Vallejo-Córdova, B., Hernández-Mendoza, A., Garcia, H. S., & González-Córdova, A. F. (2025). From Mexico to the world: at least sixty different types of artisanal Mexican cheeses. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 40, 101189. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2025.101189>
- Statista. (2024a). *El sector lácteo en el mundo - Datos estadísticos*. Es.Statista.Com/Temas/9459/El-Sector-Lacteo-En-El-Mundo/#editorsPicks.
- Statista. (2024b). *Ranking de los principales países productores de leche de vaca en el mundo en 2024*. <https://Es.Statista.Com/Estadisticas/600241/Principales-Productores-de-Leche-de-Vaca-En-El-Mundo-En>.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Marco teórico

2.1.1. Quesos tradicionales

Existen registros históricos que relacionan el origen de la producción de los quesos con el descubrimiento de la agricultura (alrededor de los 6000 a. C.), debido a que después de este importante suceso en la historia de la humanidad, se produjeron diferentes beneficios como la domesticación de especies productoras de leche: vacas, cabras y ovejas. A partir de la observación, el hombre descubrió que la leche producida por esas especies pasaba por diferentes procesos de fermentación, dando como resultado al queso. Un alimento que ha sido fuente de nutrientes y base de la alimentación de la humanidad hasta nuestros días (Fox et al., 2017).

Después de su descubrimiento, el queso ha evolucionado considerablemente, a tal grado que existe una gran diversidad de quesos en el mundo, dando lugar a una cultura quesera propia de cada región (Anastasiou et al., 2022). Se estima que en el mundo existen más de 4000 variedades de quesos, los cuales han sido clasificados de acuerdo con diferentes aspectos: agente coagulante (cuajo, mixto o ácido); textura (muy duro, duro, semiduro, semiblando, blando); contenido de humedad (madurado o fresco); y, microbiota (bacterias internas, bacterias superficiales, moho interno o superficial, bacterias de ácido propiónico) (Fox et al., 2017).

Una importante clasificación de los quesos, son los tradicionales, éstos constituyen sistemas bio-socio-técnicos complejos donde convergen materias primas locales, saberes artesanales, ecologías microbianas autóctonas y marcos regulatorios de calidad, origen y tradición (Bintsis & Papademas, 2024), estos son

producidos en diversas regiones del mundo y se estima que existe una producción de 1500 diferentes tipos de quesos tradicionales (Barron et al., 2017).

Los quesos tradicionales cuentan con características sensoriales y de calidad únicas conferidas por los procesos de elaboración. Las características sensoriales se producen a partir de diferentes eventos bioquímicos (proteólisis, lipólisis y glucólisis), influenciados por diferentes factores como son: el tipo de leche, cultivos de bacterias ácido lácticas (BAL), condiciones del proceso, tipo y tiempo de maduración, entre otros aspectos (Drake & Delahunty, 2017a), mientras que, las características de calidad se derivan del bienestar ambiental y animal, métodos de producción y declaraciones de seguridad, origen geográfico (Valletta et al., 2021). Ambos conjuntos de características son importantes para los consumidores en la decisión de compra y elección del producto (Kilcawley, 2017).

En diferentes regiones del mundo existen normativas para proteger las condiciones de autenticidad de los quesos artesanales, mediante protecciones jurídico-económicas o etiquetas distintivas como son: Denominación de Origen Protegida (DOP), Indicación Geográfica Protegida (IGP), Especialidades Tradicionales Garantizadas (ETG) y también se pueden encontrar otras etiquetas, como “producto de la agricultura insular” o “producto de montaña” (Cardin et al., 2022).

2.1.2. Quesos tradicionales mexicanos

En el caso de México las técnicas de producción de queso fueron desarrolladas en el siglo XVI por los conquistadores españoles, quienes introdujeron al país a los primeros hatos de cabras, ovejas y vacas, y los distribuyeron por todo el territorio de la Nueva España (Villegas & de la Huerta, 2014). A partir de este suceso, y de acuerdo con las necesidades de alimentación específicas de cada región, la quesería mexicana ha evolucionado a lo largo del territorio nacional, actualmente se producen alrededor de 60 diferentes variedades de quesos tradicionales mexicanos con diferentes tipos de leche (Cuadro 1), proceso de

producción, maduración y características sensoriales (Reyes-Díaz et al., 2025). Entre los que destacan Quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca (Martínez-Martínez et al., 2024); Cotija, de la Sierra Jalisco (Flores-Magallón et al., 2011); Bola de Ocosingo (Agudelo-López et al., 2019) y Crema de Chiapas (Aguilar-Toalá et al., 2022); Poro de Tabasco (Torres-Salas et al., 2020); Añejo de Zacazonapan (Hernández Morales et al., 2011; Torres-Salas et al., 2023a); y algunos menos conocidos como es el caso del queso Seco Encerado del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca (Martínez-Aquino, 2025), el cual es objeto de estudio en esta investigación.

Cuadro 1. Clasificación y características de quesos tradicionales mexicanos

Queso	Origen	Tipo de producción	Textura y maduración	Forma (peso, kg)
Ahumado de La Joya	Veracruz	Artesanal	Semiduro; sin madurar	Cilíndrico (0.5 a 1)
Anejo de Zacatecas	Zacatecas	Artesanal	Semiduro; madurado	Cilíndrico o prismático (1 a 1.5)
Anejo de Zacazonapan	Estado de México	Artesanal	Semiduro; madurado (20 días a 1 año)	Prismático (1 a 8)
Blanco	Todo México	Artesanal e Industrial	Blando y desmoronable; sin madurar,	Prismático
Botanero	Puebla, Tlaxcala, Edo. Méx.	Artesanal e Industrial	Blando, prensado o no, sin madurar	Cilíndrico (0.250 a 1)
Chapingo	Estado de México	Industrial	Semiduro; semi madurado (>1 mes)	Cilíndrico (4 a 5)
Chongos Zamoranos	Todo México (principalmente Michoacán)	Artesanal	Textura líquida; sin madurar	Amorfo, en envases (0.250 a 1)
Cocido	Sonora	Artesanal e Industrial	Filata y semiduro; sin madurar	Cilíndrico (0.250 a 1)
Criollo Asadero	Morelos, Guerrero	Artesanal	Semiduro o duro; madurado	Cilíndrico (1 a 10)
Criollo en hoja de luna	Hidalgo	Artesanal	Blando; sin madurar	Bola envuelta en hoja (0.250)
De Aro (Molido)	Todo México	Artesanal	Blando; sin madurar	Cilíndrico (0.200 a 1 kg)
De Aro de Etlá	Oaxaca	Artesanal	Blando; sin madurar	Cilíndrico (0.200 a 1)
De Chiquihuite	Nayarit	Artesanal	Semiduro, madurado	Cilíndrico (1 a 2)

Cuadro 1. Clasificación y características de quesos tradicionales mexicanos (Continuación)

Queso	Origen	Tipo de producción	Textura y maduración	Forma (peso, kg)
De Hoja	Oaxaca	Artesanal	Blando o semiduro; sin madurar	Cilíndrico envuelto en hoja (0.450 a 0.900)
De Prensa (Costeño)	Oaxaca, Guerrero	Artesanal	Semiduro o duro; sin madurar	Cilíndrico
De Reata o Enreatado	Veracruz	Artesanal e Industrial	Semiduro; ligeramente madurado	Cilíndrico (2 a 3)
De Sal	Chiapas	Artesanal	Blando y semiduro; madurado	Cilíndrico o prismático (0.250 a 2)
De Tenate	Tlaxcala, Hidalgo	Artesanal	Blando y semiduro; sin madurar	Cilíndrico (0.250 a 1)
De Tepeque	Michoacán	Artesanal	Semiduro y duro; madurado	Cilíndrico (aprox. 10)
Fresco de Chiautla	Puebla	Artesanal	Blando; sin madurar	Cilíndrico (0.100 a 0.250)
Fresco de Olinalá	Guerrero	Artesanal	Blando; sin madurar	Cilíndrico (0.200 a 1)
Fresco de Sonora	Sonora	Artesanal	Blando; sin madurar	Cilíndrico (2 a 15)
Jarocho (de Marqueta)	Veracruz	Artesanal	Blando o semiduro; sin madurar	Cilíndrico (6 a 8)
Jocoque escurrido	Centro de México	Artesanal	Blando y textura cremosa; sin madurar	Amorfo
Molido de Aculco	Estado de México	Artesanal	Blando; sin madurar	Prismático (0.250)
Molido y Cremoso de Oaxaca	Oaxaca	Artesanal	Blando o semiduro; ligeramente madurado	Cilíndrico o prismático (1 a 2)
Panela seco	Nayarit	Artesanal	Semiduro; madurado	Cilíndrico (1 a 2)
Prensado de Ojos Negros	Baja California Norte	Artesanal	Semiduro; ligeramente madurado	Cilíndrico (0.500 a 5)
Quesillo de Reyes Etlá	Oaxaca	Artesanal e Industrial	Filata y semiduro; sin madurar	Bolas o madejas (0.250 a 1)
Ranchero de Jilotepec	Estado de México	Artesanal	Blando; sin madurar	Cilíndrico (0.200 a 0.500)
Ranchero de Veracruz	Veracruz	Artesanal	Blando; ligeramente madurado	Cilíndrico o prismático, 250 g–20 kg
Ranchero de Yecapixtla	Morelos	Artesanal	Blando; sin madurar	Cilíndrico (0.200 a 1)
Refregado	Estado de México	Artesanal	Semiduro; madurado	

Cuadro 1. Clasificación y características de quesos tradicionales mexicanos (Continuación)

Queso	Origen	Tipo de producción	Textura y maduración	Forma (peso, kg)
Requesón	Todo México	Artesanal	Blando y cremoso; sin madurar	Amorfo
Seco (Anejo) de Chiautla	Puebla	Artesanal	Semiduro; ligeramente madurado	Cilíndrico (0.100 a 0.250)
Seco	Guerrero	Artesanal	Semiduro; madurado	Cilíndrico (1 a 2)
Sierra de Durango	Durango	Artesanal	Semiduro; madurado	Cilíndrico, (0.750 g a 2)

*Adaptado de Reyes-Díaz et al., (2025).

A pesar de la importancia gastronómica que representan los quesos mexicanos, por sus usos como ingrediente y complemento en los platillos tradicionales de cada región, la derrama económica que mejora las economías y por consiguiente la calidad de vida de los productores (Martínez-Aquino, et al., 2025), los quesos tradicionales mexicanos se enfrentan a una problemática, debido a que carecen de protecciones jurídico económicas que regulen y protejan sus procesos de producción, caso contrario a los quesos extranjero que están protegidos con Denominación de Origen. En México a pesar de los múltiples esfuerzos por parte de investigadores, académicos, productores y demás miembros de la cadena de productiva de los diferentes quesos, los intentos por obtener una certificación como la Denominación de Origen han fracasado, quedando únicamente en Protección de Indicación Geográfica para el Quesillo de Reyes Etla (Fernández-Sánchez et al., 2025) y Marcas Colectivas para el queso, Cotija (Ovando-Flores et al., 2021); Bola de Ocosingo (Agudelo-López et al., 2019); Crema de Chiapas y Poro de Balancán, Tabasco (Villegas de Gante et al., 2014).

La importancia del estudio de los quesos tradicionales recae en que actualmente existe un auge por los consumidores para preferir alimentos naturales y con beneficios para su salud (Silvestri et al., 2020). En el caso de los quesos tradicionales mexicanos se han identificado presencia de diferentes compuestos bioactivos como es el caso de los péptidos con:

- i) Actividad antihipertensiva en: queso fresco (Torres-Llanez et al., 2011), Añejo de Zacazonapan (Torres-Salas et al., 2024a); queso Crema de Chiapas (Gonzalez-Gonzalez et al., 2019); Queso Cotija (Hernández-Galán et al., 2016);
- ii) Actividad antioxidante en: Añejo de Zacazonapan (Torres-Salas et al., 2024b); fresco de cabra (Vázquez-García et al., 2021); queso Crema de Chiapas (Aguilar-Toalá et al., 2022; Gonzalez-Gonzalez et al., 2019); queso Asadero (Rojas-González et al., 2022); Queso Cotija (Hernández-Galán et al., 2016); Queso Panela (López-Villafaña et al., 2023).
- iii) Actividad antimicrobiana en: queso Cotija (García-Cano et al., 2014); Quesillo (Caro et al., 2013); Añejo de Zacazonapan (Torres-Salas et al., 2021).

2.1.3. Uso de la espectroscopía en el análisis de los quesos tradicionales

Las técnicas espectroscópicas constituyen herramientas fundamentales para la caracterización de la materia, basándose en sus interacciones con la radiación electromagnética (RE). Esta radiación, emitida desde una fuente de radiación que interactúa con la materia, lo que puede dar lugar a fenómenos como reflexión, refracción, dispersión o absorción (McParland & Berry, 2016). La espectroscopia infrarroja (IR) se enfoca en la región infrarroja del espectro electromagnético, cuyas longitudes de onda oscilan entre 700 nm y 1 mm, lo que corresponde a números de onda entre 14 000 y 10 cm^{-1} (Karamoko & Karoui, 2024). Esta región corresponde a las frecuencias vibracionales de las moléculas, lo que permite caracterizar compuestos moleculares y determinar su abundancia en diversas muestras. La radiación IR se subdivide en tres regiones: infrarrojo cercano (NIR); infrarrojo medio (MIR); e infrarrojo lejano (FIR). Particularmente, la región MIR se asocia con las vibraciones fundamentales de las moléculas, lo que facilita su identificación (Sharma, 2018).

El queso es de los productos lácteos fermentados más relevantes a nivel mundial, ha sido objeto de múltiples estudios espectroscópicos. Estas técnicas permiten detectar adulteraciones, evaluar la calidad, predecir la composición química y

monitorear los cambios durante el proceso de maduración. Diversos estudios han aplicado espectroscopía IR para caracterizar quesos tradicionales de distintas regiones, entre ellos: Pecorino italiano (Di Donato et al., 2022); Cheddar (Dewantier et al., 2023); Ricotta (Foschi et al., 2025); Coalho (Silva et al., 2021); Grana Padano (Maestrello et al., 2024); Camembert (Martín-del-Campo et al., 2007); Gouda (Califano & Bevilacqua, 2000); entre otros quesos reconocidos a nivel mundial. Estos estudios demuestran la versatilidad de la espectroscopia IR como herramienta analítica en la industria quesera.

2.1.3.1. Espectroscopía de infrarrojo cercano (NIR)

La espectroscopia de NIR se reconoce como una tecnología analítica robusta para la evaluación composicional de productos lácteos. esta técnica se basa en la absorción de radiación asociada a vibraciones de sobretono y combinaciones moleculares, donde las transiciones energéticas implican la excitación hacia niveles vibracionales superiores o la combinación de vibraciones fundamentales. El rango espectral del NIR se sitúa entre 14,000 y 4,000 cm^{-1} (Mohammadi et al., 2024).

El uso de NIR en la industria láctea cuenta con más de tres décadas de desarrollo, iniciando con los trabajos pioneros de Polesello & Giangiacomo, (1983), quienes exploraron sus propiedades ópticas y aplicaciones del NIR en el análisis de lácteos. Desde entonces, ésta técnica se ha consolidado en múltiples áreas, destacando investigaciones recientes como: la predicción del grado de maduración de queso Cheddar (Seratlic et al., 2024); la autenticación e identificación de adulteraciones en quesos (Seratlic et al., 2024); la verificación de denominaciones de origen protegidas (PDO) en quesos *Parmigiano Reggiano* y *Grana Padano* (Stocco et al., 2025); el monitoreo del proceso de maduración en quesos suecos (Alinaghi et al., 2023); el análisis de control de calidad y vida de anaquel en quesos recubiertos con parafina (Priyashantha et al., 2021); la estimación del perfil de ácidos grasos (AG) en quesos (Reis et al., 2022); y la predicción de atributos sensoriales mediante la combinación de NIR y perfiles sensoriales utilizando redes neuronales (Curto et al., 2020). Estas aplicaciones

evidencian la versatilidad del NIR en el análisis de productos lácteos, particularmente en quesos tradicionales.

Estas aplicaciones evidencian la versatilidad del NIR, que permite analizar muestras en estado sólido, líquido o gaseoso, y facilita la interpretación de patrones complejos sin requerir datos de referencia extensos. No obstante, la técnica presenta limitaciones importantes: la necesidad de calibraciones específicas para cada producto y componente, la supervisión estricta de la precisión y reproducibilidad (Yakubu et al., 2022).

2.1.3.2. Espectroscopía de infrarrojo medio (MIR)

La espectroscopía en el infrarrojo medio (MIR) se ha consolidado como una herramienta fundamental para la caracterización y predicción de la composición de la leche y productos lácteos. Esta técnica se basa en la interacción de la radiación infrarroja con las vibraciones moleculares, lo que permite identificar compuestos específicos en matrices complejas. El rango espectral del MIR es de $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$, se encuentra asociado a vibraciones fundamentales de la materia, lo que otorga alta especificidad para la identificación molecular (Sharma, 2018).

En la industria láctea, el MIR se emplea principalmente para la determinación rutinaria de componentes como grasa, proteína y lactosa, parámetros críticos para el control de calidad (Barrera Morelli et al., 2025). En el caso del estudio de los quesos, se identificaron aplicaciones relevantes del uso del MIR entre éstas destacan: la identificación y clasificación de quesos Maroilles (artesanales e industriales) (Karamoko & Karoui, 2024); la caracterización del proceso de maduración en queso Camembert (Martín-del-Campo et al., 2007), queso Minas de Brasil (De Jesus et al., 2020) y quesos de oveja (Andrade et al., 2018); la determinación de la composición proximal del queso Cheddar (Margolies & Barbano, 2018); y la autenticación de queso Prato (Tolentino et al., 2023); entre otros.

El uso de la espectroscopia MIR ofrece ventajas significativas en comparación con otros métodos analíticos convencionales. Entre ellas destacan: rapidez y bajo costo, en comparación con métodos cromatográficos o gravimétricos; sostenibilidad, al reducir el uso de reactivos químicos, lo que la convierte en una técnica ecoamigable; versatilidad, al permitir el análisis simultáneo de múltiples componentes; y un gran potencial predictivo, especialmente cuando se combina con algoritmos avanzados y técnicas quimiométricas (Grelet et al., 2021; Macedo Mota et al., 2023).

2.1.4. Cambios durante la maduración del queso

La maduración constituye una etapa determinante en la elaboración del queso, ya que durante este periodo el producto debe mantenerse bajo condiciones controladas de humedad, temperatura y tiempo, sin embargo, algunos quesos tradicionales como el queso Seco Encerado, se maduran en condiciones dadas de manera empírica o de acuerdo con su entorno de producción (Martínez-Aquino, et al., 2025). El proceso de maduración adquiere especial relevancia en quesos semiduros y duros, dado que influye directamente en el desarrollo de sus características sensoriales (Abarquero et al., 2024).

Desde el punto de vista bioquímico, la maduración es el resultado de una serie de reacciones complejas que comprenden tres mecanismos principales: la glucólisis o metabolismo de la lactosa, la lipólisis y la proteólisis (Yilmaz et al., 2025). Estas transformaciones provocan modificaciones significativas en la estructura y composición del queso, afectando parámetros como la textura, el pH, el contenido de grasa y la liberación de ácidos grasos libres, la actividad enzimática, el microbiota, la actividad acuosa, contenido de sal y humedad, así como, la producción de compuestos responsables del aroma y el sabor (Nasim et al., 2025). En las secciones siguientes se describen de manera detallada las etapas y procesos que intervienen en la maduración de los quesos, haciendo énfasis en el impacto de este proceso sobre la calidad final del producto.

2.1.5. Proteólisis y catabolismo de aminoácidos

La proteólisis constituye el proceso primario más relevante y complejo en el desarrollo del perfil sensorial de los productos lácteos fermentados, especialmente durante la etapa de maduración. En el metabolismo primario, las caseínas son inicialmente hidrolizadas por la acción del cuajo, generando polipéptidos que posteriormente se transforman en péptidos de menor tamaño y aminoácidos libres mediante la actividad de proteasas, peptidasas y oligopeptidasas. Estos péptidos cortos pueden seguir degradándose en aminoácidos libres gracias a la acción de exopeptidasas, como aminopeptidasas, dipeptidasas y tripeptidasas (Figura 1). En el metabolismo secundario, los aminoácidos liberados se convierten en compuestos responsables del sabor mediante reacciones catalizadas por enzimas como aminotransferasas, deshidrogenasas y descarboxilasas (Zhao et al., 2025).

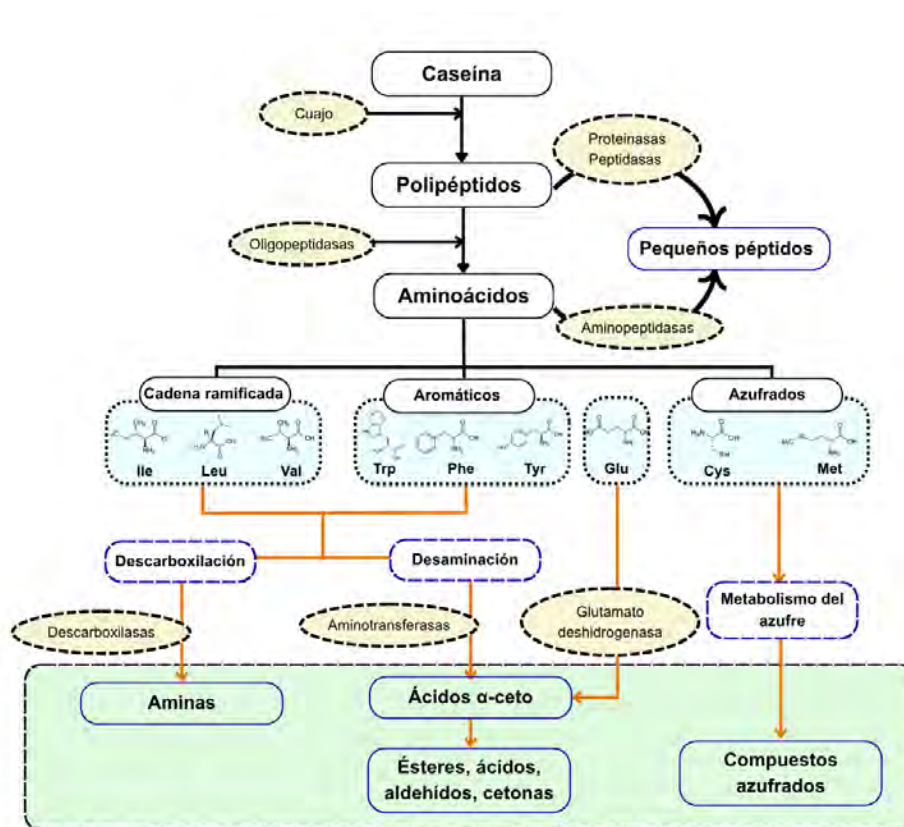


Figura 1. Rutas metabólicas de la proteólisis desarrollada durante la maduración del queso (Zhao et al., 2025).

2.1.6. Lipólisis

La lipólisis o hidrólisis de lípidos y el metabolismo de los ácidos grasos (Figura 2) desempeñan un papel muy importante en la maduración del queso. Durante este fenómeno, la grasa láctea se somete a la acción de enzimas lipolíticas, principalmente lipasas y esterasas, que catalizan la descomposición de triglicéridos en monoglicéridos, diglicéridos y ácidos grasos libres (AGL). Los ácidos grasos de cadena corta (C_2 - C_{10}) son hidrolizados principalmente por esterasas, mientras que los ácidos grasos de cadena larga ($> C_{12}$) se hidrolizan por acción de las lipasas. El grado de hidrólisis determina la composición de los AGL, los cuales pueden abarcar desde cadenas cortas hasta largas, contribuyendo de manera diferenciada a las propiedades sensoriales del producto final (Zhao et al., 2025).

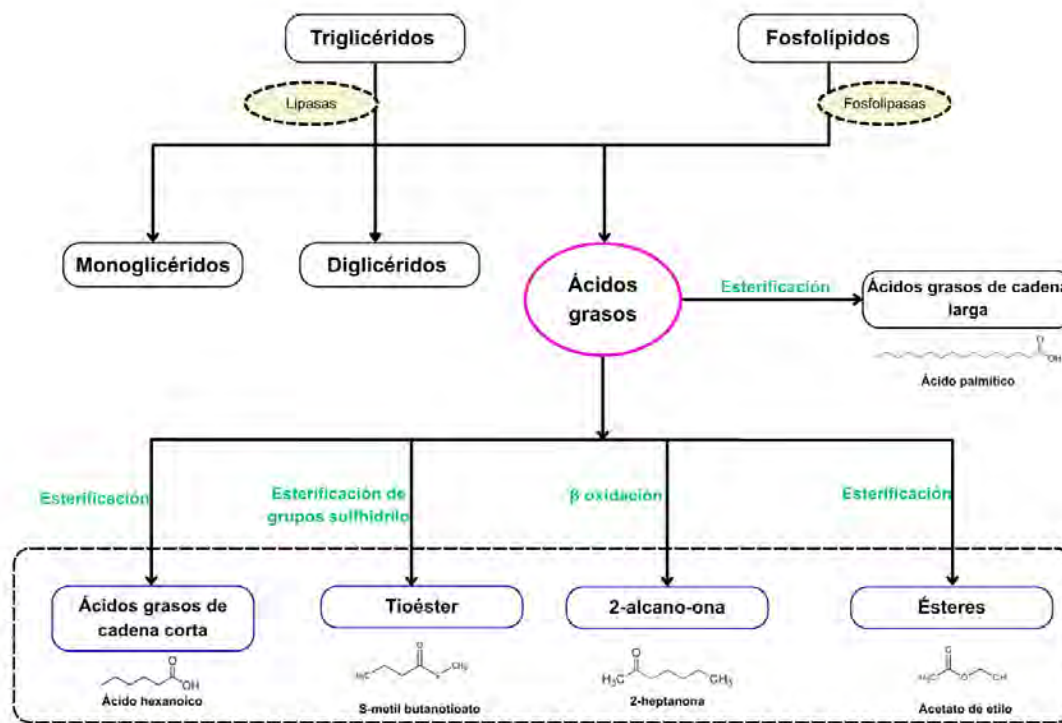


Figura 2. Rutas metabólicas de la lipólisis desarrollada durante la maduración del queso (Zhao et al., 2025).

Las lipasas y esterasas del queso se originan de múltiples fuentes, incluyendo leche cruda, cuajo, cultivos iniciadores, cultivos adjuntos y bacterias no iniciadoras. Los microorganismos con enzimas lipolíticas también son muy comunes en bacterias ácido lácticas o BAL (*Lactobacillus helveticus* y *Streptococcus thermophilus*), y también se han descubierto y estudiado en muchas levaduras (*Debaryomyces hansenii* y *Kluyveromyces marxianus*) y hongos (*Geotrichum candidum* y *Aspergillus* spp.) (Chintagavongse et al., 2022).

2.1.7. Glucólisis

La glucólisis es producida a partir del metabolismo de las BAL y otros microorganismos involucrados en la fermentación (Figura 3). Este proceso implica múltiples reacciones bioquímicas, incluyendo la hidrólisis de los azúcares de la leche (principalmente la lactosa), la conversión de intermediarios de azúcar y el metabolismo del citrato. La lactosa y el citrato son los carbohidratos predominantes en la leche de todos los mamíferos, aunque su contenido de lactosa varía mucho entre los diferentes mamíferos. Las BAL utilizan la lactosa a través de una serie de procesos enzimáticos que finalmente contribuyen a la formación de compuestos de sabor como el ácido láctico, los ácidos orgánicos y sus derivados, mientras que el citrato se metaboliza principalmente en compuestos volátiles de aromas (Zheng et al., 2021).

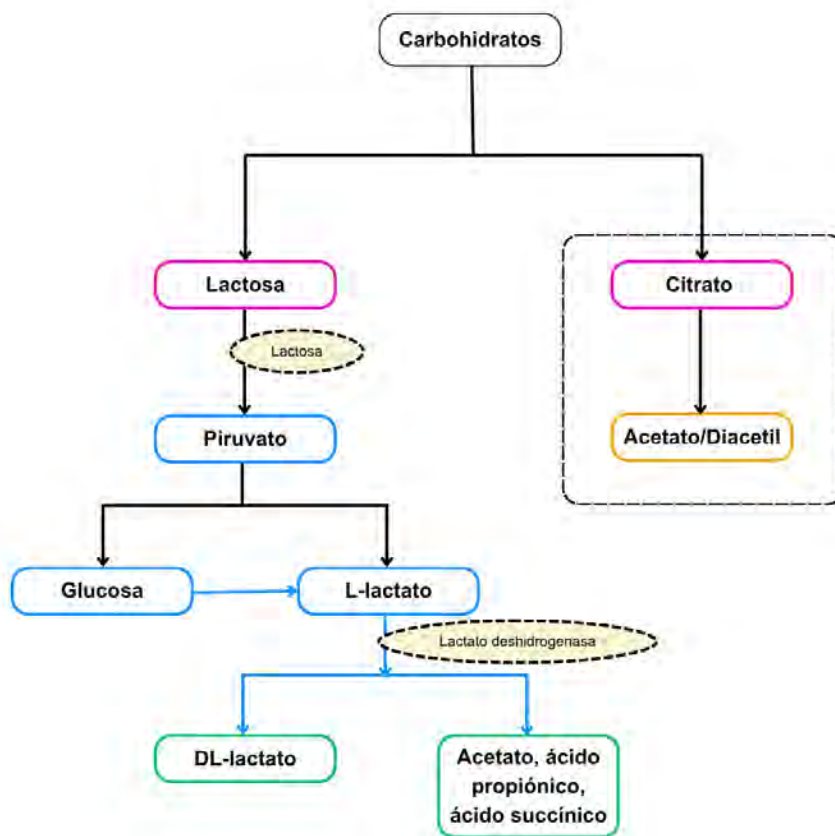


Figura 3. Rutas metabólicas de la glucólisis desarrollada durante la maduración del queso (Zhao et al., 2025).

La lactosa se hidrolizada por la enzima β -galactosidasa (también conocida como lactasa) se ha identificado en varios microorganismos, incluidos *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum* y *Kluyveromyces lactis* (Khattab et al., 2019), su función principal es escindir la lactosa en glucosa y galactosa. Estos monosacáridos son fermentados principalmente a ácido láctico a través de la vía de Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) o la vía de la fosfoctetolasa. En la vía EMP, la glucosa se convierte en piruvato, que posteriormente se reduce a ácido láctico (Figura 3). El ácido láctico ha sido identificado como un compuesto clave para el sabor en varios quesos, contribuyendo particularmente a la acidez en el queso (Zhao et al., 2025).

2.1.8. Cambios sensoriales durante la maduración de los quesos

Las características sensoriales, influyen fuertemente en el consumo de los quesos madurados, se considera que el sabor y la textura afectan considerablemente la elección de compra de un producto (Baker et al., 2022). En el caso de los quesos, cada uno de los procesos bioquímicos que suceden durante los procesos de maduración condicionan al producto final a una serie de atributos sensoriales que definen su aceptabilidad por los consumidores (Braghieri et al., 2014).

Para comprender la importancia de las características sensoriales en los quesos, a lo largo de la historia se ha descrito y aplicado diversos métodos de análisis del queso para identificar las propiedades cualitativas y cuantitativas en numerosos quesos (Drake & Delahunty, 2017b; El-Aidie et al., 2024; Foegeding et al., 2003; Jo et al., 2018; Salum et al., 2018; Savelli et al., 2021).

Existen numerosas metodologías para evaluar los atributos sensoriales del queso, podemos clasificarlas en dos grandes categorías: las metodologías sensoriales convencionales, como el análisis de perfiles descriptivos (realizado por panelistas capacitados) y otras metodologías, ejecutadas por consumidores no capacitados, como la prueba CATA (*check all that apply*), las pruebas de aceptabilidad, pruebas discriminativas, el mapeo proyectivo, el perfil flash y el *napping* o mapa sensorial por disposición libre (Khattab et al., 2019).

2.1.9. Análisis de consumidores en quesos tradicionales

El eslabón final en la producción de los quesos tradicionales es la comercialización, sin embargo, un aspecto poco estudiado pero muy importante en el consumo y la compra de los alimentos tradicionales es el comportamiento del consumidor.

El comportamiento del consumidor es un proceso cognitivo complejo que combina una serie de factores como la experiencia de compra, experiencias sensoriales, presencia de etiquetado que indique que el producto cuenta con

certificaciones que garanticen su inocuidad, trazabilidad y autenticidad, estilo de vida y consideraciones alimentarias relacionadas con los efectos de la salud. A partir de los factores mencionados anteriormente, los consumidores toman sus decisiones de compra por determinado tipo de producto (Zhllima et al., 2021).

Atendiendo las necesidades de los consumidores, los comercializadores pueden diseñar estrategias de comercialización en la que se refuerce la implementación de etiquetas y certificaciones que realzan la autenticidad, el origen geográfico y los métodos tradicionales de producción. Estos elementos, profundamente arraigados en la historia local y la experiencia tradicional, permiten a los productores diferenciarse de las marcas establecidas, que a menudo se basan en narrativas de identidad y etiquetas colectivas como las Indicaciones Geográficas (IG), una forma ampliamente reconocida de reconocimiento que se comunica eficazmente a las partes interesadas (Mouatadid et al., 2025).

2.1.10. Preferencias de consumidores

El conocimiento de las preferencias de los consumidores en la elección de alimentos es un elemento esencial dentro de la investigación de las ciencias del comportamiento del consumidor y las ciencias de la alimentación. Los principales factores que influyen en las preferencias alimentarias y en la elección de los alimentos se clasifican en tres grandes dimensiones: demográficas, actitudinales y conductuales. Las variables demográficas incluyen aspectos como género, edad y nivel de ingresos, que condicionan el acceso y la elección de determinados productos, mientras que, las actitudes reflejan la valoración subjetiva hacia características específicas del alimento, tales como sabor, textura, valor nutricional o atributos relacionados con la sostenibilidad; y finalmente, el aspecto conductual se relaciona con los hábitos de consumo, que abarcan tanto las formas de preparación y presentación de los alimentos, así como, los contextos geográficos y socioculturales en los que se realiza el consumo (Martínez-Aquino et al., 2025).

Existen diferentes técnicas que permiten identificar las preferencias de los consumidores basadas en el análisis de conjunto, en éste caso existen dos categorías principales: (i) enfoques basados en la aceptación, que requieren que los consumidores califiquen cada producto alternativo según su grado de agrado o intención de compra hipotética, y (ii) enfoques basados en la preferencia, donde se requiere que los consumidores expresen sus preferencias ya sea en términos de clasificaciones o de elecciones entre varios productos alternativos con diferentes niveles de atributos, entre éste grupo se encuentran los Experimentos de Elección Discreta (DCE, por sus siglas en inglés) (Asioli et al., 2016).

2.1.11. Experimentos de elección discreta

Los experimentos basados en la elección se han desarrollado para investigar la elección de los consumidores; en un estudio de elección, les presenta una serie de escenarios de elección alternativos y se les pide a los consumidores que elijan la opción más preferida de acuerdo con sus preferencias, dentro de cada escenario de elección (Gonçalves et al., 2019; Mazzocchi et al., 2019). Las alternativas se componen de diferentes combinaciones de niveles de atributos que caracterizan los alimentos (por ejemplo, origen, proceso de manufactura, certificaciones, precio, contenido nutricional, etc.) generalmente según un diseño experimental (Cantillo et al., 2020; Tait et al., 2019).

Los modelos de elección discreta tienen su origen en teorías económicas y se basan en modelar la “utilidad” o beneficio neto que un consumidor obtiene al seleccionar un producto específico en una situación de elección, en función de los factores conjunto (Asioli et al., 2016). La forma original de analizar los DCE surgió hace algunas décadas, evaluando únicamente los efectos fijos, sin embargo, actualmente se pueden evaluar los efectos fijos y aleatorios mediante modelos como el logit multinomial o el modelo logit mixto (Heiss, 2016).

En el modelo logit mixto, la utilidad de un producto j para el individuo m en una ocasión de elección t se expresa como:

Eq. 1:
$$U_{mjt} = \beta'_m X_{mjt} + \varepsilon_{mjt}$$

Donde β'_m es un vector aleatorio de parámetros específicos del individuo que explican la heterogeneidad de preferencias; X_{mjt} es un vector de factores conjuntos y ε_{mjt} es un término de error aleatorio. Una ventaja del modelo logit mixto es que se pueden incluir libremente los parámetros aleatorios β'_m de cualquier distribución y correlaciones entre factores aleatorios. Esta flexibilidad permite escribir modelos que se ajusten mejor a las situaciones del mundo real (Heiss, 2016). Los modelos lineales (ML) se han aplicado también en estudios de alimentos de consumo, en diferentes quesos tradicionales europeos, mientras que, en quesos mexicanos, el trabajo reportado por Martínez-Aquino et al., (2025) es el primero en su tipo.

2.2. Marco de referencia

2.2.1. Producción láctea en México

La producción de leche en México es una actividad primaria que tiene gran importancia para la economía nacional (Loera & Banda, 2017), esta actividad se desarrolla a lo largo del territorio mexicano en una diversidad de climas y de acuerdo con costumbres y tradiciones propias de cada región (Gallegos-Daniel et al., 2023). En el 2023 la producción de leche de bovino en México representó un 54.6 % de la producción nacional pecuaria, con un volumen de producción de 13.33 millones de litros, representando un valor económico de la producción de 5,641.25 millones de USD; las entidades federativas que aportaron un mayor volumen de la producción fueron: Jalisco (21 %), Coahuila (11 %), Durango (11 %), Chihuahua (9 %) y Guanajuato (7 %), las principales razas productoras de leche empleadas son: Holstein Fresian, Jersey y Pardo Suizo, por otra parte, la producción de leche de caprino en México representó un 0.7 % de la producción nacional pecuaria, con un volumen de producción de 169 miles de litros,

representando un valor económico de la producción de 66,650 mil USD; las entidades federativas que aportaron un mayor volumen de la producción fueron: Coahuila (27 %), Guanajuato (26 %), Durango (14 %), Jalisco (6 %) y Chihuahua (4 %), teniendo como principales razas productoras a la Alpina, Nubia, Saanen y Toggenburg (SIAP, 2024)

La leche y sus derivados son productos básicos tanto en la economía como en la alimentación de la población mexicana. Aunque la leche de bovino se consume principalmente como leche fluida, la producción de quesos constituye una actividad de gran relevancia. En 2022, la agroindustria quesera ocupó el cuarto lugar entre los productos pecuarios más importantes de México (Flores-López et al., 2024). De acuerdo con (EMR, 2024), en el año 2023 el mercado de queso en México alcanzó un valor de USD 3,554.37 millones y se estima una tasa de crecimiento del 7.6 % en el periodo de 2024 a 2032, donde el valor económico de la industria quesera mexicana será de 6,871.85 millones de USD. La producción de quesos en México el 2023 fue de 446 mil toneladas (Statista Research Department, 2024), de las cuales se estima que solo el 25 % quesos producidos por parte de medianos y pequeños productores de manera artesanal (Silva-Paz et al., 2020), a partir de esto se puede inferir que la producción de quesos artesanales en México en el 2024 fue aproximadamente de 111 mil toneladas.

2.2.2. Producción láctea en Oaxaca

Según datos del Censo Económico 2019, en Oaxaca se identificaron 1104 unidades de producción de lácteos, lo cual representa en términos económicos una derrama económica bruta estatal de 490 millones de pesos MX. A pesar de que la agroindustria láctea oaxaqueña tiene una gran derrama económica ésta se da de manera artesanal, ya que carece de apoyos que incentiven su producción, debido a que la inversión en este rubro es de 2.49 millones de pesos MX, sumamente bajo comparado con Guanajuato, donde se han destinado 1520 millones de pesos MX de inversión a la industria láctea. Para el caso específico del queso Seco Encerado, en la región del Istmo de Tehuantepec, cuna del

queso, se han identificado 45 unidades de producción láctea, se desconoce el ingreso económico que esta actividad derrama en la región (Secretaría de Economía, 2025).

Oaxaca es una región quesera por excelencia, debido a que se cuenta con la producción del Quesillo de Reyes Etlá, que recientemente ha adquirido la protección de Indicación geográfica (Fernández-Sánchez et al., 2025), así mismo, en la región de la Costa se produce el queso de Hoja y el queso de Prensa. En el Istmo de Tehuantepec el queso más representativo es el queso Seco Encerado, platillo, ingrediente y complemento de la gastronomía tradicional istmeña (Martínez-Aquino et al., 2025), y motivo de estudio de esta investigación.

2.3. Literatura citada

- Abarquero, D., Duque, C., Bodelón, R., López, I., Muñoz, J., María Fresno, J., & Eugenia Tornadijo, M. (2024). Autochthonous cultures to improve the quality of PGI Castellano cheese: Impact on proteolysis, microstructure and texture during ripening. *Food Research International*, 186, 114306. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114306>
- Agudelo-López, M., Cesín-Vargas, A., Espinoza-Ortega, A., & Ramírez-Valverde, B. (2019). Consumer evaluation and sensory analysis of queso Bola de Ocosingo (Mexico). *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 10(1), 104–119. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i1.4739>
- Aguilar-Toalá, J. E., Torres-Llanez, M. J., Hernández-Mendoza, A., Reyes-Díaz, R., Vallejo-Cordoba, B., & González-Córdova, A. F. (2022). Antioxidant capacity and identification of radical scavenging peptides from Crema de Chiapas, Fresco and Cocido cheeses. *Journal of Food Science and Technology*, 59(7), 2705–2713. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05291-2>
- Alinaghi, M., Nilsson, D., Singh, N., Höjer, A., Saedén, K. H., & Trygg, J. (2023). Near-infrared hyperspectral image analysis for monitoring the cheese-ripening process. *Journal of Dairy Science*, 106(11), 7407–7418. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23377>
- Anastasiou, R., Kazou, M., Georgalaki, M., Aktypis, A., Zoumpopoulou, G., & Tsakalidou, E. (2022). Omics approaches to assess flavor development in cheese. *Foods*, 11(2), 188. <https://doi.org/10.3390/foods11020188>
- Andrade, J., Pereira, C. G., Ranquine, T., Azarias, C. A., Bell, M. J. V., & de Carvalho dos Anjos, V. (2018). Long-term ripening evaluation of ewes' cheeses by Fourier-Transformed infrared spectroscopy under real industrial conditions. *Journal of Spectroscopy*, 2018(1), 1381864. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2018/1381864>
- Asioli, D., Almlí, V. L., & Næs, T. (2016). Comparison of two different strategies for investigating individual differences among consumers in choice experiments. A case study based on preferences for iced coffee in Norway. *Food Quality and Preference*, 54, 79–89. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2016.07.005>
- Baker, M. T., Lu, P., Parrella, J. A., & Leggett, H. R. (2022). Consumer acceptance toward functional foods: A scoping review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(3), 1217. <https://doi.org/10.3390/ijerph19031217>
- Barrera Morelli, J., McGoverin, C., Nieuwoudt, M., Holroyd, S. E., & Pilkington, L. I. (2025). Chemometric techniques for the prediction of milk composition from MIR spectral data: A review. *Food Chemistry*, 469, 142465. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.142465>

- Barron, L. J. R., Aldai, N., Virto, M., & de Renobales, M. (2017). Cheeses with protected land- and tradition-related labels: Traceability and authentication. In *Global Cheesemaking Technology : Cheese quality and characteristics*, 100–119. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781119046165.ch0e>
- Bintsis, T., & Papademas, P. (2024). The application of protective cultures in cheese: A review. *Fermentation*, 10(3), 1–16. <https://doi.org/10.3390/fermentation10030117>
- Braghieri, A., Girolami, A., Riviezz, A. M., Piazzolla, N., & Napolitano, F. (2014). Liking of traditional cheese and consumer willingness to pay. *Italian Journal of Animal Science*, 13(1), 155–162. <https://doi.org/10.4081/ijas.2014.3029>
- Califano, A. N., & Bevilacqua, A. E. (2000). multivariate analysis of the organic acids content of Gouda type cheese during ripening. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13(6), 949–960. <https://doi.org/10.1006/jfca.2000.0930>
- Cantillo, J., Martín, J. C., & Román, C. (2020). Discrete choice experiments in the analysis of consumers' preferences for finfish products: A systematic literature review. *Food Quality and Preference*, 84, 103952. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2020.103952>
- Cardin, M., Cardazzo, B., Mounier, J., Novelli, E., Coton, M., & Coton, E. (2022). Authenticity and typicity of traditional cheeses: A review on geographical origin authentication methods. *Foods*, 11(21), 1–24. <https://doi.org/10.3390/foods11213379>
- Caro, I., Mateo, J., Sandoval, M. H., Soto, S., García-Armesto, M. R., & Castro, J. M. (2013). Characterization of Oaxaca raw milk cheese microbiota with particular interest in *Lactobacillus* strains. *Journal of Dairy Science*, 96(6), 3461–3470. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6103>
- Chintagavongse, N., Takiguchi, H., Ming-Hsuan, C., Tamano, K., Hayakawa, T., Wakamatsu, J. ichi, Mitani, T., & Kumura, H. (2022). A study of lipolysis induced by adjuncts from edible *Aspergillus* sp. solid culture products on ripened semi-hard cheese. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(10), 4355–4362. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11789>
- Curto, B., Moreno, V., García-Esteban, J. A., Blanco, F. J., González, I., Vivar, A., & Revilla, I. (2020). Accurate prediction of sensory attributes of cheese using near-infrared spectroscopy based on artificial neural network. *Sensors (Switzerland)*, 20(12), 1–16. <https://doi.org/10.3390/s20123566>
- De Jesus, J. C., Silva, G. J., Gonçalves, B. H., De Souza, M. R., Santos, L. S., & Ferrão, S. P. B. (2020). Quick identification of the time of maturation of artisanal Minas cheese by FTIR-ATR spectroscopy and multivariate techniques. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 31(10), 2000–2011. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20200100>
- Dewantier, G. R., Torley, P. J., & Blanch, E. W. (2023). identifying chemical differences in Cheddar cheese based on maturity level and manufacturer

- using vibrational spectroscopy and chemometrics. *Molecules*, 28(24). <https://doi.org/10.3390/molecules28248051>
- Di Donato, F., Biancolillo, A., Foschi, M., & D'Archivio, A. A. (2022). Application of SPORT algorithm on ATR-FTIR data: A rapid and green tool for the characterization and discrimination of three typical Italian Pecorino cheeses. *Journal of Food Composition and Analysis*, 114, 104784. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104784>
- Drake, M. A., & Delahunty, C. M. (2017a). Sensory character of cheese and its evaluation. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (4a ed., pp. 517–545). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00020-X>
- El-Aidie, S. A. M., Castro-Muñoz, R., Abu-Jdayil, B., & El-Dieb, S. M. (2024). The role of microbial coagulants on the physicochemical, proteolysis, microstructure and sensory properties of low-fat Edam cheese manufactured from ultrafiltered buffalo milk. *International Dairy Journal*, 157, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2024.105995>
- EMR, I. de E. (2024). *Perspectiva del Mercado de Queso en México*. Tendencias históricas y pronósticas del mercado lácteo en México. <https://www.informesdeexpertos.com/informes/mercado-mexicano-del-queso>
- Fernández-Sánchez, H. Y., Espinoza-Ortega, A., & Montes de Oca-Flores, E. (2025). Physicochemical and microbiological characterization of the traditional quesillo (Pasta filata) from Oaxaca, Mexico. *AvaCient*, 5(2), 13–25. <https://doi.org/10.69823/avacient.v5n2a2>
- Flores-López, Ma. D. L., Solís-López, M. K., Chombo-Morales, M. P., & Suárez-Jacobo, A. (2024). Los desafíos de la producción artesanal de quesos y uso del lactosuero en Zapotlanejo, Jalisco, México. *Revista de El Colegio de San Luis*, 25, 1–30. <https://doi.org/https://revista.colsan.edu.mx/index.php/COLSAN/article/view/1594/1624>
- Flores-Magallón, R., Oliva-Hernández, A. A., & Narváez-Zapata, A. A. (2011). Characterization of microbial traits involved with the elaboration of the Cotija cheese. *Food Science and Biotechnology*, 20(4), 997–1003. <https://doi.org/10.1007/s10068-011-0137-z>
- Foegeding, E. A., Brown, J., Drake, M. A., & Daubert, C. R. (2003). Sensory and mechanical aspects of cheese texture. *International Dairy Journal*, 13(8), 585–591. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00094-3](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00094-3)
- Foschi, M., Biancolillo, A., Reale, S., Poles, F., & D'Archivio, A. A. (2025). Classification of “Ricotta” whey cheese from different milk and Designation of Origin-protected samples through infrared spectroscopy and chemometric analysis. *Journal of Food Composition and Analysis*, 138, 107019. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2024.107019>

- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogann, T. M., & Mcsweeney, P. L. H. (2017). *Fundamentals of Cheese Science* (Second). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9>
- Gallegos-Daniel, C., Taddei-Bringas, C., & González-Córdova, A. F. (2023). Panorama de la industria láctea en México. *Estudios Sociales. Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo Regional*, 33(61). <https://doi.org/10.24836/es.v33i61.1251>
- García-Cano, I., Serrano-Maldonado, C. E., Olvera-García, M., Delgado-Arciniega, E., Peña-Montes, C., Mendoza-Hernández, G., & Quirasco, M. (2014). Antibacterial activity produced by *Enterococcus* spp. isolated from an artisanal Mexican dairy product, Cotija cheese. *Lwt*, 59(1), 26–34. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.059>
- Gonçalves, T., Pinto, L. M. C., & Lourenço-Gomes, L. (2019). Exploring distinct sources of heterogeneity in discrete choice experiment: An application to wine choice across European consumers. *Economics Letters*, 178, 28–32. <https://doi.org/10.1016/j.econlet.2019.02.019>
- Gonzalez-Gonzalez, C. R., Machado, J., Correia, S., McCartney, A. L., Stephen Elmore, J., & Jauregi, P. (2019). Highly proteolytic bacteria from semi-ripened Chiapas cheese elicit angiotensin-I converting enzyme inhibition and antioxidant activity. *Lwt*, 111, 449–456. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.039>
- Grelet, C., Dardenne, P., Soyeurt, H., Fernandez, J. A., Vanlierde, A., Stevens, F., Gengler, N., & Dehareng, F. (2021). Large-scale phenotyping in dairy sector using milk MIR spectra: Key factors affecting the quality of predictions. *Methods*, 186, 97–111. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2020.07.012>
- Heiss, F. (2016). Discrete Choice Methods with Simulation. *Econometric Reviews*, 35(4), 688–692. <https://doi.org/10.1080/07474938.2014.975634>
- Hernández Morales, C., Hernández Montes, A., Villegas de Gante, A. Z., & Aguirre Mandujano, E. (2011). El proceso socio-técnico de producción de Queso Añejo de Zacazonapan, Estado de México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 2(2), 161–176.
- Hernández-Galán, L., Cardador-Martínez, A., Picque, D., Spinnler, H. E., López-del-Castillo Lozano, M., & Martín del Campo, S. T. (2016). ACEI and antioxidant peptides release during ripening of Mexican Cotija hard cheese. *Journal of Food Research*, 5(3), 85. <https://doi.org/10.5539/jfr.v5n3p85>
- Jo, Y., Benoist, D. M., Ameerally, A., & Drake, M. A. (2018). Sensory and chemical properties of Gouda cheese. *Journal of Dairy Science*, 101(3), 1967–1989. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13637>

- Karamoko, G., & Karoui, R. (2024). Physicochemical, rheology, and Mid-Infrared spectroscopy techniques for the characterization of artisanal and industrial Maroilles Cheeses. *Foods*, 13(3086), 1–17.
- Khattab, A. R., Guirguis, H. A., Tawfik, S. M., & Farag, M. A. (2019). Cheese ripening: A review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment. *Trends in Food Science and Technology*, 88, 343–360. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.009>
- Kilcawley, K. N. (2017). Cheese Flavour. In P. F. Fox, T. P. Guinee, T. M. Cogan, & P. L. H. McSweeney (Eds.), *Fundamentals of Cheese Science* (Second, pp. 443–474). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9_13
- Loera, J., & Banda, J. (2017). Industria lechera en México: parámetros de la producción de leche y abasto del mercado interno. *Revista Investigación Alotandinas*, 19(4), 419–426.
- López-Villafaña, B. P., Rojas-González, S., Elías-Román, R. D., & Rodríguez-Hernández, G. (2023). The evolution of antioxidative properties of protein-derived peptides of Mexican Panela goat and cow milk cheese during its shelf life. *CYTA - Journal of Food*, 21(1), 57–63. <https://doi.org/10.1080/19476337.2022.2152100>
- Macedo Mota, L. F., Bisutti, V., Vanzin, A., Pegolo, S., Toscano, A., Schiavon, S., Tagliapietra, F., Gallo, L., Ajmone Marsan, P., & Cecchinato, A. (2023). Predicting milk protein fractions using infrared spectroscopy and a gradient boosting machine for breeding purposes in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*, 106(3), 1853–1873. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22119>
- Maestrello, V., Solovyev, P., Franceschi, P., Stroppa, A., & Bontempo, L. (2024). ¹H-NMR Approach for the discrimination of PDO Grana Padano cheese from non-PDO cheeses. *Foods*, 13(3). <https://doi.org/10.3390/foods13030358>
- Margolies, B. J., & Barbano, D. M. (2018). Determination of fat, protein, moisture, and salt content of Cheddar cheese using mid-infrared transmittance spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 101(2), 924–933. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13431>
- Martín-del-Campo, S. T., Picque, D., Cosío-Ramírez, R., & Corrieu, G. (2007). Middle infrared spectroscopy characterization of ripening stages of Camembert-type cheeses. *International Dairy Journal*, 17(7), 835–845. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.10.003>
- Martínez-Aquino, V., Hernández-Montes, A., & Espejel García, A. (2025). Consumer preferences and economic valuation of a traditional Mexican cheese using discrete choice experiments. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 16(3), 610–629. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v16i3.6856>
- Martínez-Aquino, V., Suárez-Patlán, E. E., Espejel-García, A., Hernández-Montes, A., & Saucedo, A. L. (2025). Evaluation of maturation changes in

- the handcrafted waxed dry cheese from Southern Mexico using infrared spectroscopy and chemometrics: prospective tools for adding value to local products. *Journal of Dairy Research*, 92(1), 1–10. <https://doi.org/10.1017/S0022029925101325>
- Martínez-Martínez, D. A., Matías-Pérez, D., Varapizuela-Sánchez, C. F., Hernández-Bautista, E., Sánchez-Medina, M. A., & García-Montalvo, I. A. (2024). Quesillo: a cultural and economic legacy in Oaxaca through the social and solidarity economy. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 8. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2024.1496193>
- Mazzocchi, C., Ruggeri, G., & Corsi, S. (2019). Consumers' preferences for biodiversity in vineyards: A choice experiment on wine. *Wine Economics and Policy*, 8(2), 155–164. <https://doi.org/10.1016/j.wep.2019.09.002>
- McParland, S., & Berry, D. P. (2016). The potential of Fourier transform infrared spectroscopy of milk samples to predict energy intake and efficiency in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99(5), 4056–4070. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10051>
- Mohammadi, S., Gowen, A., Luo, J., & O'Donnell, C. (2024). Prediction of milk composition using multivariate chemometric modelling of infrared, Raman, and fluorescence spectroscopic data: A review. *Food Control*, 165, 110658. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2024.110658>
- Mouatadid, N., Oukheda, M., Khiati, M., Saile, R., & Kettani, A. (2025). Determinants of aged cheese consumer preferences in Morocco—a cross-sectional study of economic, cultural, and social factors influencing purchasing behaviors. *Frontiers in Nutrition*, 12. <https://doi.org/10.3389/fnut.2025.1600873>
- Nasim, I., Faisal, Z., Akhtar, A., Maqsood, S., Khalid, N., & Barrow, C. J. (2025). A review of In vitro digestion models and studies for soft/semisoft and hard/semihard cheeses. *International Dairy Journal*, 169. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2025.106335>
- Ovando-Flores, H., Thomé-Ortiz, H., Barragán-López, E., & Torres-Villa, R. (2021). Functional social organization to obtain the region of origin Cotija cheese collective brand. *Agroproductividad*, 3, 1–8. <https://doi.org/10.32854/agrop>
- Polesello, A., & Giangiacomo, R. (1983). Application of near infrared spectrophotometry to the nondestructive analysis of foods: A review of experimental results. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 18(3), 203–230. <https://doi.org/10.1080/10408398309527363>
- Priyashantha, H., Höjer, A., Saedén, K. H., Lundh, Å., Johansson, M., Bernes, G., Geladi, P., & Hetta, M. (2021). Determining the end-date of long-ripening cheese maturation using NIR hyperspectral image modelling: A feasibility study. *Food Control*, 130. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108316>

- Reis, M. G., Agnew, M., Jacob, N., & Reis, M. M. (2022). Comparative evaluation of miniaturized and conventional NIR spectrophotometer for estimation of fatty acids in cheeses. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 279. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.121433>
- Reyes-Díaz, R., Méndez-Romero, J. I., Reyes-Díaz, A., Cuevas-González, P. F., Beltrán-Barrientos, L. M., Santiago-López, L., Vallejo-Córdoba, B., Hernández-Mendoza, A., García, H. S., & González-Córdova, A. F. (2025). From Mexico to the world: at least sixty different types of artisanal Mexican cheeses. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 40, 101189. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2025.101189>
- Rojas-González, S., Carbajal-padilla, D., Aguilar-Ruiz, N., & Rodríguez-Hernández, G. (2022). Actividad antioxidante y proteolítica in situ en extractos hidrosolubles de queso Asadero de Guanajuato , México. *Interciencia*, 47(10), 426–429.
- Salum, P., Govce, G., Kendirci, P., Bas, D., & Erbay, Z. (2018). Composition, proteolysis, lipolysis, volatile compound profile and sensory characteristics of ripened white cheeses manufactured in different geographical regions of Turkey. *International Dairy Journal*, 87, 26–36. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.07.011>
- Savelli, E., Bravi, L., Francioni, B., Murmura, F., & Pencarelli, T. (2021). PDO labels and food preferences: results from a sensory analysis. *British Food Journal*, 123(3), 1170–1189. <https://doi.org/10.1108/BFJ-05-2020-0435>
- Seratic, S., Guha, B., & Moore, S. (2024). advances in spectroscopic methods for predicting Cheddar cheese maturity: A review of FT-IR, NIR, and NMR Techniques. *NDT*, 2(4), 392–416. <https://doi.org/10.3390/ndt2040024>
- Sharma, S. K. (2018). *Handbook of Materials Characterization* (S. K. Sharma, Ed.). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-92955-2>
- SIAP, S. de I. A. y P. (2024). *Panorama Agroalimentario México 2018-2024* (p. 210). SADER.
- Silva, L. K. R., Jesus, J. C., Onelli, R. R. V., Conceição, D. G., Santos, L. S., & Ferrão, S. P. B. (2021). Discriminating Coalho cheese by origin through near and middle infrared spectroscopy and analytical measures. Discrimination of Coalho cheese origin. *International Journal of Dairy Technology*, 74(2), 393–403. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12767>
- Silva-Paz, L. E., Medina-Basulto, G. E., López-Valencia, G., Montaña-Gómez, M. F., Villa-Angulo, R., Herrera Ramírez, J. C., González-Silva, A. L., Monge-Navarro, F., Cueto-González, S. A., & Felipe-García, G. (2020). Caracterización de la leche y queso artesanal de la región de Ojos Negros, Baja California, México. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 11(2), 553–564. <https://doi.org/10.22319/RMCP.V11I2.5084>

- Silvestri, C., Aquilani, B., Piccarozzi, M., & Ruggieri, A. (2020). Consumer quality perception in traditional food: Parmigiano Reggiano cheese. *Journal of International Food and Agribusiness Marketing*, 32(2), 141–167. <https://doi.org/10.1080/08974438.2019.1599754>
- Statista Research Department. (2024). Producción de queso en México de 2010 a 2023. Statista. <https://es.statista.com/estadisticas/1300524/mexico-volumen-de-produccion-de-queso/>
- Stocco, G., Molle, A., Biffani, S., Pizzamiglio, V., Cruz, J., Ferragina, A., & Cipolat-Gotet, C. (2025). Use of NDSS to discriminate between Parmigiano Reggiano and Grana Padano PDO and their ripening times from grated cheese spectra. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 337. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2025.126087>
- Tait, P., Saunders, C., Dalziel, P., Rutherford, P., Driver, T., & Guenther, M. (2019). Estimating wine consumer preferences for sustainability attributes: A discrete choice experiment of Californian Sauvignon blanc purchasers. *Journal of Cleaner Production*, 233, 412–420. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.06.076>
- Tolentino, I. C. de S. A., Jesus, J. C. de, Conceição, D. G., Onelli, R. R. V., Reis, L. C. C., Santos, L. S., & Ferrão, S. P. B. (2023). Use of MIR spectroscopy associated with chemometric techniques to verify the authenticity of Prato cheese. *International Dairy Journal*, 142. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105643>
- Torres-Llenez, M. J., González-Córdova, A. F., Hernandez-Mendoza, A., Garcia, H. S., & Vallejo-Cordoba, B. (2011). Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in Mexican Fresco cheese. *Journal of Dairy Science*, 94(8), 3794–3800. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4237>
- Torres-Salas, V., Hernández-Montes, A., & Hernández-Rodríguez, B. E. (2023). Análisis sensorial, textural y actividad antioxidante de queso añejo de Zacazonapan durante la maduración. *Biotecnia*, 25(2), 204–213. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v25i2.1897>
- Torres-Salas, V., Hernández-Montes, A., Pablo-Cano, M., Jáuregui-García, C. Z., Peralta-Aparicio, C., & Espejel-García, A. (2020). Communalities of meanings for Mexican traditional cheeses: Zacazonapan cheese, Quesillo and Poro cheese. *Acta Universitaria*, 30, 1–13. <http://doi.org/10.15174.au.2020.2875>
- Torres-Salas, V., Hernández-Rodríguez, B. E., Hernández-Montes, A., Castillo, E., Zuleta-Prada, H., & Herbert-Pucheta, J. E. (2021). Solid-state NMR spectroscopy for disentangling structural and motional features of lyophilized ripened cheese water-soluble extracts related to antimicrobial activity. *Food Chemistry*, 334. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127603>
- Torres-Salas, V., Hernández-Rodríguez, B. E., Vioque-Peña, J., Girón-Calle, J., Alaiz, M., Hernández-Montes, A., & Zuleta-Prada, H. (2024). Amino acid

- composition, antioxidant and antihypertensive activity in extracts from Mexican Añejo cheese. *Food Technology and Biotechnology*, 62(3), 373–383. <https://doi.org/10.17113/ftb.62.03.24.8533>
- Valletta, M., Ragucci, S., Landi, N., Di Maro, A., Pedone, P. V., Russo, R., & Chambery, A. (2021). Mass spectrometry-based protein and peptide profiling for food frauds, traceability and authenticity assessment. *Food Chemistry*, 365. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130456>
- Vázquez-García, R., Cardador-Martínez, A., Orihuela-López, M. A., Ramos-Hernández, L. S., & Martín-Del-campo, S. T. (2021). Preliminary study of extended ripening effects on peptides evolution and DPPH radical scavenging activity in Mexican goat cheese. *Catalysts*, 11(8). <https://doi.org/10.3390/catal11080967>
- Villegas, A., & de la Huerta, R. (2014). Naturaleza, evolución, contrastes e implicaciones de las imitaciones de quesos mexicanos genuinos. *Estudios Sociales*, XXII(45), 214–236. https://doi.org/https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-45572015000100009
- Villegas de Gante, Abraham., Cervantes Escoto, Fernando., Cesín Vargas, Alfredo., Espinoza Ortega, A., Hernández Montes, Arturo., Santos Moreno, Armando., & Martínez Campos, A. Roberto. (2014). *Atlas de los quesos mexicanos genuinos* (1a ed.). Ed. BBA.
- Yakubu, H. G., Kovacs, Z., Toth, T., & Bazar, G. (2022). The recent advances of near-infrared spectroscopy in dairy production—a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(3), 810–831. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1829540>
- Yılmaz, F., Dağdemir, E., & Hayaloğlu, A. A. (2025). Incorporation of ultrasound-assisted treatment in cheese to accelerate ripening of Kaşar cheese: Changes in cheese microbiota, proteolysis, enzyme activities and volatile profiles. *Food Chemistry*, 481. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.144090>
- Zhao, Y., Zheng, Y., Zhou, T., Liu, Y., Ibrahim, S. A., Gao, Z., Ma, X., & Wang, W. (2025). Deciphering cheese taste formation: Core microorganisms, enzymatic catalysis, and metabolic mechanisms. *Trends in Food Science and Technology*, 162. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2025.105089>
- Zheng, X., Shi, X., & Wang, B. (2021). A review on the general cheese processing technology, flavor biochemical pathways and the influence of yeasts in cheese. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 12). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.703284>
- Zhlhlima, E., Mehmeti, G., & Imami, D. (2021). Consumer preferences for cheese with focus on food safety—a segmentation analysis. *Sustainability (Switzerland)*, 13(22). <https://doi.org/10.3390/su132212524>

3. EVALUATION OF MATURATION CHANGES IN THE HANDCRAFTED WAXED DRY CHEESE FROM SOUTHERN MEXICO USING INFRARED SPECTROSCOPY AND CHEMOMETRICS: PROSPECTIVE TOOLS FOR ADDING VALUE TO LOCAL PRODUCTS*

Abstract

Changes in waxed dry cheese during the ripening process, over periods of 7 and 30 days, were analysed using near-infrared spectroscopy (FT-NIR) and mid-infrared spectroscopy (FT-MIR) by attenuated total reflection (ATR). FT-NIR was employed to determine the proximate composition of the cheese (protein, fat, moisture, total solids, and salt content), identifying changes directly associated with the ripening process. FT-MIR data were used to identify spectral bands associated with chemical changes occurring during the cheese maturation. Additionally, chemometric techniques were applied to demonstrate the potential of FT-MIR infrared spectroscopy for cheese differentiation and fingerprint profiling. Subsequently, partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) of the FT-MIR spectra was performed, revealing two distinct clusters representing the cheese ripening times. Functional groups related to lipids ($-\text{CH}_2-$ and $-\text{CH}_3$), proteins (amide bands I and II), and carbohydrates ($\text{C}-\text{O}$) were identified, correlating to lipolysis, proteolysis, and lactose catabolism. Infrared spectroscopy in combination with chemometric methods proved to be a robust and reliable tool for monitoring changes during the ripening of waxed dry cheese. The results obtained highlight its usefulness as an alternative approach for the analysis and fingerprinting of traditional Mexican foods, aiming to add value to local products.

Keywords: dairy, products partial least squares, discriminant analysis; PCA; PLS-DA; principal component analysis; proximal composition

*Doctoral thesis in Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo

Author: M. C. Valeria Martínez Aquino; Advisor: Arturo Hernández Montes, Ph.D.

Article published in: Journal of Dairy Research. DOI: [10.1017/S0022029925101325](https://doi.org/10.1017/S0022029925101325)

Authors: Valeria Martínez-Aquino, Edna E. Suárez-Patlán, Anastacio Espejel-García, Arturo Hernández-Montes & Alma L. Saucedo.

3.1. Summary

During the cheese ripening process, different biochemical reactions take place, such as proteolysis, lipolysis and carbohydrate catabolism. These processes initiate a series of physicochemical, biochemical, and sensory changes in the cheese, which are closely related to the quality and authenticity of the product (Fox et al., 2017). The characteristic quality indicators of cheese are also related with intangible attributes such as animal welfare, production process characteristics, raw material sources, and geographical origin of the product, among others (Silva et al., 2022). Various analytical strategies have been employed to assess authenticity and quality elements in cheeses. Among them, enzymatic analysis and colourimetry (Martín-del-Campo et al., 2007), mass spectrometry analysis (Valletta et al., 2021), electrophoretic and chromatographic techniques (Gan et al., 2016). Additionally, a wide range of spectroscopic methods such as nuclear magnetic resonance (Maestrello et al., 2024; Torres-Salas et al., 2021), Raman spectroscopy (Dewantier et al., 2023), near-infrared spectroscopy (Yaman et al., 2022) and attenuated total reflectance mid-infrared spectroscopy (FT-IR-ATR) (Andrade et al., 2018) have gained prominence. Infrared spectroscopy is based on the use of electromagnetic radiation to induce vibrational and rotational movements through chemical bonds. The difference between the radiation emitted and the radiation absorbed by the sample results in the generation of a spectrum. In near-infrared (FT-NIR) analysis, electromagnetic radiation with wavenumbers in the 12,000 to 4000 cm^{-1} range is directed onto the sample, leading to interactions with C–H, N–H, and O–H bonds, which produce overtones or combinations of fundamental molecular vibrations from 3000–1700 cm^{-1} . This technique is characterized by absorption and scattering of the radiation, mainly as diffuse reflectance, to provide spectra useful for quantitative determinations (Skoog et al., 2018). Indeed, FT-NIR spectroscopy is widely used as an alternative tool to traditional chemical analysis methods to determine moisture, protein, fat, non-fat solids, total solids, and salt content. On the other hand, in mid-infrared (FTMIR) analysis, the spectra are produced by fundamental molecular vibrations usually from 4000 to 400 cm^{-1} (Cardin et al.,

2022). In this region, the bands are typically observed with a higher intensity, and they are also associated with the chemical functional groups present in the molecules. Experimentally, mid-infrared spectra can be easily obtained by FT-IR-ATR with the advantage of minimal volume sample requirement. In fact, the band profile of the FT-IR-ATR spectrum represents a reliable indicator to define the fingerprint of cheese, while simultaneously it allows the identification of changes in cheese metabolites (Medina et al., 2019).

As previously mentioned, there is a growing trend toward the use spectroscopic techniques, such as FT-NIR and FT-MIR, for the chemical analysis of cheese, because these methods require minimal sample preparation or treatment and often eliminating the need for solvents or reagents, which renders them environmentally friendly. Additionally, sample recovery is feasible, the analysis time is short, and costs are relatively low compared to other analytical procedures. Moreover, their widespread application is attributed to the fact that the information obtained from these techniques is directly related to the chemical composition of the analysed sample, thereby providing its intrinsic profile (Silva et al., 2022). Both infrared methods, when combined with multivariate statistical techniques based on principal component analysis (PCA) or partial least squares discriminant analysis (PLS-DA), represent suitable approaches for monitoring cheese-making processes (Cardin et al., 2024). FT-NIR and FT-MIR coupled to diverse chemometric procedures have been successfully applied to analysis of cheeses. As examples, the published works on cheddar (Dewantier et al., 2023), grana Padano (Molle et al., 2024), Turkish white cheese (Yaman et al., 2022), Italian pecorino (Di Donato et al., 2022), and ricotta (Foschi et al., 2025). Including the evaluation of artisanal products such as the coalho (Silva et al., 2021) and artisanal Minas (De Jesus et al., 2020) cheeses handcrafted in Brazil, and the halloumi cheese elaborated in Cyprus (Tarapoulouzi et al., 2024).

In Mexico, approximately 40 different artisanal cheeses are produced (González-Córdova et al., 2016). However, there is limited information available to describe the fingerprint of Mexican cheeses using spectroscopic techniques. Among the

published studies, Herman-Lara et al. (2019) reported the mineral composition of Mexican goat cheeses in relation to geographical elements, employing microwave-induced plasma atomic emission spectroscopy. Castro-González et al. (2018) evaluated the presence of heavy metals in cheeses from Puebla, Mexico, by means of inductively coupled plasma optical emission spectroscopy. Additionally, Torres-Salas et al. (2021) used solid-state NMR to characterize the peptide matrix of mature cheese from Zacazonapan, Mexico.

Unfortunately, studies focusing on the chemical or spectroscopic characterization of artisanal cheeses produced in Southern Mexico are even more limited, with several local products remaining unexamined. This includes the waxed dry cheese, which is produced in the municipalities of Tapanatepec and Zanatepec, Oaxaca (Martínez-Aquino et al., 2023). This cheese is crafted in traditional cheese dairies with raw milk from Zebu cows (*Bos taurus indicus*) and rennet obtained naturally from bovine abomasum. The production incorporates regionally sourced raw materials, such as grain salt from the Salina Cruz salt flats in Oaxaca, and moulds made of tropical hardwoods such as parota or *huanacaxtle* (*Enterolobium cyclocarpum*). The most distinctive characteristic of this cheese is its ripening process, which occurs over a period of 30 days under the typical environmental conditions of the region, characterized by high humidity and temperature. It is important to highlight that waxed dry cheese, is not only an emblematic product of the Isthmus of Tehuantepec (Oaxaca, Mexico), but an essential component of local gastronomy, and a primary source of economic livelihood for small-scale producers. As far as is known, there are no previous reports of its chemical composition.

Thus, the objective of this research was to examine the chemical changes in waxed dry cheese during its maturation, using FT-NIR and FT-IR-ATR spectroscopic techniques, as an initial step in the chemical characterization of this product. The cheese chemical composition was characterised using FT-NIR, complemented with potentiometry and moisture measurements. Additionally, FT-IR-ATR spectra were obtained and, later, subjected to chemometric analysis

(PCA and PLS-DA) to identify the elements responsible for the differentiation of waxed dry cheese, during the ripening process. The outcome was an infrared fingerprint that chemically describes waxed dry cheese, facilitates the monitoring of the ripening process, and offers insights into attributes associated with its distinctive characteristics and added value.

3.2. Materials and methods

3.2.1. Sample collection

Four artisanal cheese dairies producing waxed dry cheese were selected after obtaining the owner's consent to participate in the study. The dairies are located in the towns of Tapanatepec (16° 22' 0" N, 94° 12' 0" W) and Zanatepec (16° 28' 26.4" N, 94° 21' 5.29" W), Oaxaca, Mexico. Using non-probability sampling, samples from each cheese producer were taken randomly in triplicate (approximately 100 g) from different batches of milk, and analysed at two ripening times, 7 and 30 days, resulting in a total of 24 samples. Later, cheeses were ground to reduce particle size and mixed to homogenize.

3.2.2. FT-NIR and physical-chemical analysis

In the physicochemical analysis, the partial proximate chemical composition of the cheese was evaluated, to determine protein, fat, moisture, total solids, and salt contents, using the dairy FTNIR analyser FoodScan™ Lab (FOSS, Inc, Hilleroe, Denmark). Thus, 100 g of each waxed dry cheese sample was placed in the glass Petri dish on the rotating plate of the equipment. The FT-NIR spectra were recorded using a transmittance wavelength range of 850–1048 nm. Proximate parameters were estimated using the FossManager™ software (FOSS, Inc., Hillerød, Denmark). The pH was determined using a potentiometer (HI98107, Hanna Instruments, Inc, Woonsocket, RI, USA). Water activity (A_w) was determined using an Aqualab water activity meter (3TE Series, Decagon Devices, Inc, Washington, USA). All assays were performed in triplicate.

3.2.3. Statistical analysis of FT-NIR data

Physicochemical data were analysed using a completely randomized design with an asymmetric factorial (A x B) arrangement, where A is the time factor with two levels (7 and 30 days), and B is the treatment factor (cheese dairies) with four levels. An analysis of variance (ANOVA) was applied with $\alpha = 0.05$, where a statistically significant difference was identified with a (p-value ≤ 0.05). Finally, a comparison of effects between treatment means was performed using Tukey's method. Statistical univariate analysis was carried out using SAS statistical software version 9.4 (SAS, Institute Inc., Cary, NC, USA).

3.2.4. FT-IR-ATR spectroscopic analysis

FT-MIR spectra were obtained by FT-IR-ATR. Approximately 2 mg of waxed dry cheese sample (n = 24) were placed on the ATR crystal and pressed until the signal intensity was recorded (each sample was processed in triplicate). FT-IR-ATR spectra were acquired between 4000 and 500 cm^{-1} with a resolution of 4 cm^{-1} and 64 scans in a Thermo Scientific™ Nicolet iS5 Thermo Scientific™ (Thermo Electron Scientific Instruments LLC, Madison, WI, USA). This Fourier transform mid-infrared spectrometer is equipped with an iD7 attenuated total reflectance accessory with a monolithic diamond crystal. The spectrometer was operated using the OMNIC™ software (Thermo Scientific, Madison, WI, USA). FT-IR-ATR collected spectra were exported as CSV files to further analysis.

3.2.5. FT-IR-ATR data preprocessing

FT-IR-ATR data initial preprocessing was performed using Excel (version 2502, Microsoft Office® 365) as follows. From data exported as CSV files, an initial matrix was generated, consisting of 7261 rows (recorded as wave numbers) and 72 columns (representing 24 cheese samples, each with three replicates, grouped by cheese producer). Data at the extremes of the spectra (400–899 and 3701–4000 cm^{-1}) and in the middle region (from 1801 to 2399 cm^{-1}) were removed due to the lack of relevant bands. Two different spectral regions were retained in the

ranges of 900–1800 cm^{-1} and 2400–3700 cm^{-1} , as these regions exhibit the highest number of bands with discriminant potential (Das et al., 2021). The average spectra for the replicates of each sample were calculated to reduce sample variation. This action was conducted to obtain a new matrix consisting of 5082 rows (wave numbers recorded) and 24 columns (cheese samples, grouped by cheese factory). To facilitate data reduction, a binning procedure was performed in intervals of 21 data points along the wavenumber axis. Consequently, the final FT-IR-ATR data matrix had 204 rows (wavenumber averages) and 24 columns. Additional data preprocessing for the chemometric analysis using PCA (as exploratory technique) and PLS-DA (as discriminative technique) were conducted utilizing the Metaboanalyst 6.0 platform with the “Statistical Analysis One Factor” module (Canadian Institutes for Health Research, 2024). This is a well-established online server dedicated to metabolomics data statistical analysis, interpretation and integration. Data preprocessing was started by selecting spectral bins with unpaired columns. Subsequently, data filtering included applying a variance filter using the median absolute deviation, and an abundance filter using mean intensity value. Finally, the data were scaled using Pareto scaling (Sysi-Aho et al., 2007). In addition, cross-validation (considering three components) and permutation tests (using B/W separation distance, and set permutation numbers of 100 and 1000, respectively) were performed to assess the PLS-DA model reliability.

3.3. Results and discussion

3.3.1. FT-NIR and physicochemical analysis of waxed dry cheese

FT-NIR spectroscopy is a well-established technique to determine the proximate composition of cheese based on chemometric methods (Stocco et al., 2019). Despite its limitations, this alternative tool provides fast, accurate, and reliable results. The most frequently predicted parameters include moisture, fat, protein, and NaCl (Bittante et al., 2022). In the study of waxed dry cheese, total solids (TS) and non-fatty solids (NFS) were also evaluated using FT-NIR. In addition, pH was measured by potentiometry, and A_w was determined through moisture analysis

(Kaczyński, 2024). In Table 1 (where the four artisanal cheese dairies were named A, B, C, and D), the changes in the proximate composition and physicochemical variables monitored during the ripening period of waxed dry cheese are shown. A statistically significant increase ($p < 0.05$) was observed in the percentage content of protein, fat, non-fat solids, salt, and total solids. Conversely, moisture, pH, and A_w declined during the ripening process.

The increase in protein content during cheese ripening has been previously reported in dairy products, such as Van Herby cheese and white cheeses from Turkey (Özcan Yardım and Durak, 2023); also, for the Zacazonapan aged cheese from México (Torres-Salas et al., 2023). Thus, waxed dry cheese an increasing protein concentration as a function of ripening time was expected. Simultaneously, the reductions in moisture and A_w are correlated, because both indicate water loss. In conjunction, these processes are common during cheese ripening and have been previously reported in feta cheese (Thodis et al., 2023), cheddar cheese (Mamo, 2017), and Mexican Manchego-style cheese (Sardiñas-Valdés et al., 2021). Additionally, it has been reported that a high salt content in the curd stimulates syneresis in cheeses, leading to moisture loss and an increase in protein concentration in the curd (Guinee and Fox, 2017). Moreover, ripening time plays a crucial role, since during this period the protein matrix undergoes changes such as the binding of carboxyl groups and the release of amino acids (Sousa et al., 2001). In the case of waxed dry cheese, the moisture loss is associated with the characteristics of the process, mainly due to the high salt addition during dry salting and throughout ripening, where various factors stimulate water loss. Additionally, the increase in fat content during cheese ripening is associated with the moisture reduction. However, the increase in total fat content is also related to lipolysis, a biochemical process involving the hydrolysis of fat and the release of fatty acids (Thierry et al., 2017). Indeed, cheese lipolysis is a crucial process that significantly contributes to the development of the cheese aroma and flavour, contributing with these characteristics in waxed dry cheese.

Concomitantly, the decrease in pH is related to the catabolism of lactose and the production of organic acids, primarily by lactic acid microorganisms (De Jesus et al., 2020). In the case of waxed dry cheese, the reduction in pH may be related to the metabolism of lactose through the metabolic pathways of lactic acid bacteria, to produce lactate, citrate and acetate, all of them acidic metabolites (Jo et al., 2018). It has been reported that changes in pH have a direct relationship with the time and temperature of ripening ($>30^{\circ}\text{C}$), resulting in various sensory changes, mainly related to flavour and aroma (Califano and Bevilacqua, 2000). According to the analysis conducted by (Beresford and Williams, 2004), raw cow's milk contains a higher number of lactic acid microorganisms, leading to a wide diversity of ripening microorganisms, which results in specific biochemical and sensory properties that characterize this type of cheese. Waxed dry cheese is produced from raw milk and rennet from Zebu cattle, and undergoes a ripening process for a period of 30 days at environmental temperatures above 30°C . It is expected that the present microorganisms contribute to the accumulation of organic acids, which would explain the significant changes in pH during cheese ripening.

In addition, during the transformation of raw milk into cheese, a series of fermentations takes place, resulting in the hydrolysis of proteins, or proteolysis. This process is driven by the metabolism of different proteolytic enzymes, which may be native to raw cow's milk, added through rennet, or released by lactic acid bacteria (Fox et al., 2017). Proteolytic processes are responsible for the release of low molecular weight proteins, water-soluble peptides, and free amino acids, leading to an increase in protein concentration (Mamo, 2017). Since waxed dry cheese is produced from raw cow's milk, a higher amount of native proteolytic enzymes is presumed. Similarly, the rennet is natural, derived from bovine abomasum. In conjunction, these factors, along with the ripening process, might enhance proteolytic activity. However, further studies are necessary to describe the biochemical process occurring during waxed dry cheese ripening and explain the changes in proximate composition, pH and Aw.

Cuadro 2. **Table 1.** FT-NIR physicochemical analysis of waxed dry cheese produced in four different artisanal cheese dairies (A-D) in Oaxaca, Mexico.

Parameter	Time	Artisanal cheese dairies			
	(d)	A	B	C	D
Protein	7	28 ± 0.13 $x^{*}_{b\varphi}$	29 ± 2.86 x_c	24 ± 0.52 x_d	27 ± 0.65 x_c
	30	33 ± 0.16 y_b	33 ± 1.01 y_b	38 ± 0.61 y_a	30 ± 0.62 y_{bc}
Humidity	7	39 ± 1.13 x_{bc}	40 ± 4.39 x_a	42 ± 1.91 x_a	44 ± 0.61 x_a
	30	29 ± 1.10 y_{bcd}	32 ± 0.02 y_b	23 ± 1.54 y_d	26 ± 1.18 y_{cd}
Fat	7	28 ± 0.35 x_a	23 ± 2.04 x_{de}	25 ± 0.38 x_{cd}	22 ± 0.97 x_e
	30	30 ± 0.16 y_a	27 ± 0.04 y_{bc}	29 ± 0.07 y_{ab}	31 ± 0.46 y_a
Salt	7	3.16 ± 0.01 x	3.04 ± 0.01 x	3.32 ± 0.03 x	2.96 ± 0.01 x
	30	3.17 ± 0.01 y	3.63 ± 0.50 y	3.23 ± 0.01 y	3.34 ± 0.01 y
TS	7	61 ± 0.33 x_{bc}	60 ± 4.39 x_d	58 ± 1.91 x_d	57 ± 0.61 x_d
	30	71 ± 1.10 y_{abc}	68 ± 0.02 y_c	77 ± 1.54 y_a	74 ± 1.18 y_{ab}
NFS	7	37 ± 1.89 x_b	36 ± 2.35 x_c	33 ± 0.49 x_c	34 ± 1.05 x_c
	30	41 ± 0.95 y_b	41 ± 0.05 y_b	48 ± 1.21 y_a	43 ± 1.33 y_b
pH	7	5.3 ± 0.05 y_d	5.3 ± 0.03 y_d	5.7 ± 0.04 y_b	6.0 ± 0.04 y_a
	30	4.95 ± 0.02 x_f	4.89 ± 0.02 x_f	5.16 ± 0.03 x_e	5.55 ± 0.03 x_c
Aw	7	0.8301 ± 0.001 y_c	0.922 ± 0.001 y_a	0.8716 ± 0.004 y_a	0.924 ± 0.003 y_a
	30	0.781 ± 0.003 x_c	0.844 ± 0.004 x_c	0.772 ± 0.009 x_{de}	0.751 ± 0.027 x_e

TS: Total solids; NFS: Non fatty solids

*Statistical difference between ripening time ($p < 0.05$);

φ Statistical difference between artisanal cheese dairies ($p < 0.05$).

3.3.2. FT-IR-ATR spectroscopic analysis of waxed dry cheese

Cheese samples were analysed by means of FT-IR-ATR to detect chemical changes related to ripening process, with the advantage of direct analysis without an extensive sample preparation. In a second step, a chemometric model based in FT-IR-ATR spectra was developed. Figure 1 shows representative FT-IR-ATR spectra obtained from the waxed dry cheese samples, along with the assignment of the main bands associated with the spectral vibrations of fatty acids, proteins, and carbohydrates molecules, mostly. In this figure, distinguishable characteristics related to the two different ripening periods of cheese are observed. These vibrational changes are correlated to variations in the cheese physicochemical composition. A more detailed description of the band assignment is provided below.

In the spectra shown in Figure 1, two important regions are easily noticeable within the spectral range of $3700\text{--}2400\text{ cm}^{-1}$ and $1800\text{--}900\text{ cm}^{-1}$. Particularly, in the range of $3500\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$, intense bands are clearly observed. These bands are related to the stretching vibrations of --OH groups from water molecules, as well as hydroxyl groups in carbohydrates and proteins, and the stretching vibration of the --NH bond associated with the peptide bond in proteins. The low absorption bands at 2960 and 2879 cm^{-1} were assigned to the asymmetric and symmetric stretching of --CH_3 , respectively. Meanwhile, the intense bands identified at 2916 and 2850 cm^{-1} were attributed to the asymmetric and symmetric stretching of $\text{--CH}_2\text{--}$ groups. These stretching vibrations of methyl and methylene groups mainly correspond to the aliphatic chains of fatty acids. This assignment is consistent with the marked difference in absorption for the bands of $\text{--CH}_2\text{--}$ compared to --CH_3 groups, which is expected for this type of molecule. In the second relevant region of the waxed dry cheese spectrum, which ranges from 1800 to 900 cm^{-1} , the characteristic vibrations of distinctive functional groups were assigned as can be read below. The low-intensity bands identified between 1728 and 1715 cm^{-1} were associated with the $\text{C}=\text{O}$ symmetric stretching of the carbonyl group, from esters and carboxylic acids (Andrade et al., 2018). In

samples such as waxed dry cheese, this can be primarily attributed to the carbonyl groups of the lipid carboxylate group (Sakkas et al., 2021), with a lesser contribution from acidic amino acids such as glutamate and aspartate.

In addition, in the spectra of waxed dry cheese, the bands at 1625 and 1534 cm^{-1} stand out due to their intensity. These bands were assigned to the amide I band (1625 cm^{-1}), associated with the C = O symmetric stretching of carbonyl groups, and the amide II band (1534 cm^{-1}), attributed to the N–H bending vibration of the functional groups. Amide I and II bands in the spectra of waxed dry cheese indicates the presence of the peptide bonds in milk proteins, as expected. Particularly, for cheddar cheese it has been reported that the intensity of the amide I band increases and amide II band decreases as a function of ripening time (Dewantier et al., 2023), as this change is caused by protein hydrolysis. Additionally, changes in the intensity of the amide I peak could be associated with modifications in the secondary structure of casein, protein aggregation, and protein-water interactions (Martín-del-Campo et al., 2007). Indeed, during the ripening process of waxed dry cheese, a slight reduction in the intensity of amide I and II bands was observed (see Figure 1), despite the increase in the protein content (as indicated in Table 1). Consequently, further analysis of the amide bands (such as peak deconvolution and area under curve statistics) is needed to establish the biochemical process related to these changes in waxed dry cheese.

In addition, in the spectra of waxed dry cheese, the bands at 1625 and 1534 cm^{-1} stand out due to their intensity. These bands were assigned to the amide I band (1625 cm^{-1}), associated with the C = O symmetric stretching of carbonyl groups, and the amide II band (1534 cm^{-1}), attributed to the N–H bending vibration of the functional groups. Amide I and II bands in the spectra of waxed dry cheese indicates the presence of the peptide bonds in milk proteins, as expected. Particularly, for cheddar cheese it has been reported that the intensity of the amide I band increases and amide II band decreases as a function of ripening time (Dewantier et al., 2023), as this change is caused by protein hydrolysis. Additionally, changes in the intensity of the amide I peak could be associated with

modifications in the secondary structure of casein, protein aggregation, and protein-water interactions (Martín-del-Campo et al., 2007). Indeed, during the ripening process of waxed dry cheese, a slight reduction in the intensity of amide I and II bands was observed (see Figure 1), despite the increase in the protein content (as indicated in Table 1). Consequently, further analysis of the amide bands (such as peak deconvolution and area under curve statistics) is needed to establish the biochemical process related to these changes in waxed dry cheese.

The region between 1480–1355 cm^{-1} exhibits the characteristic scissoring band of methylene groups (1465 cm^{-1}), asymmetrical bending vibration of methyl groups (1450 cm^{-1}), and symmetrical bending vibration of methyl groups (1375 cm^{-1}), all with moderate absorption. For cheeses, these bands are associated with $-\text{CH}_3$ and $\text{C}-\text{H}$ functional groups (Sakkas et al., 2021), mainly from lipid molecules and aliphatic chains of amino acids. In this region, the $\text{O}-\text{H}$ group bending vibration is also observed, generally between 1420–1330 cm^{-1} . Usually, in primary and secondary alcohols the $\text{O}-\text{H}$ bending is coupled to $\text{C}-\text{H}$ wagging vibrations, to give to two bands near to 1420 and 1330 cm^{-1} . In Waxed Dry Cheese FT-IR-ATR spectra, only one band is observed at 1417 cm^{-1} . This vibration could be generated by contributions from both the inplane vibrations of the $\text{O}-\text{H}$ groups of carbohydrates and the wagging vibrations of the $-\text{CH}_2-$ groups of lipids and amino acids. It is noteworthy that in an FT-IR study of 81 artisanal cheeses from Turkey made from sheep and goat milk, these same bands were observed (Ayvaz et al., 2021).

Finally, in the lower energy region of the FT-IR-ATR spectrum, ranging from 1330 to 950 cm^{-1} , several bands (1230, 1177, 1087, 1059, and 981 cm^{-1}) of waxed dry cheese were identified. These bands were associated with the $\text{C}-\text{O}$ stretching vibrations and the $\text{C}-\text{C}-\text{O}$ bonds asymmetric vibrations. Both functional groups are associated with the presence of carbohydrates, such as lactose (Andrade et al., 2018), as well as other functional groups such as ethers. The $\text{O}-\text{H}$ out-of-plane bending vibration of carboxylic acid is observed at 920 cm^{-1} , as can be seen in the waxed dry cheese spectra.

It is important highlight that the FT-IR-ATR profile of waxed dry cheese throughout ripening, is closely similar to the maturation process of other artisanal cheeses, such as the Brazilian Minas cheese (De Jesus et al., 2020) and the French Maroilles cheese (Karamoko and Karoui, 2024).

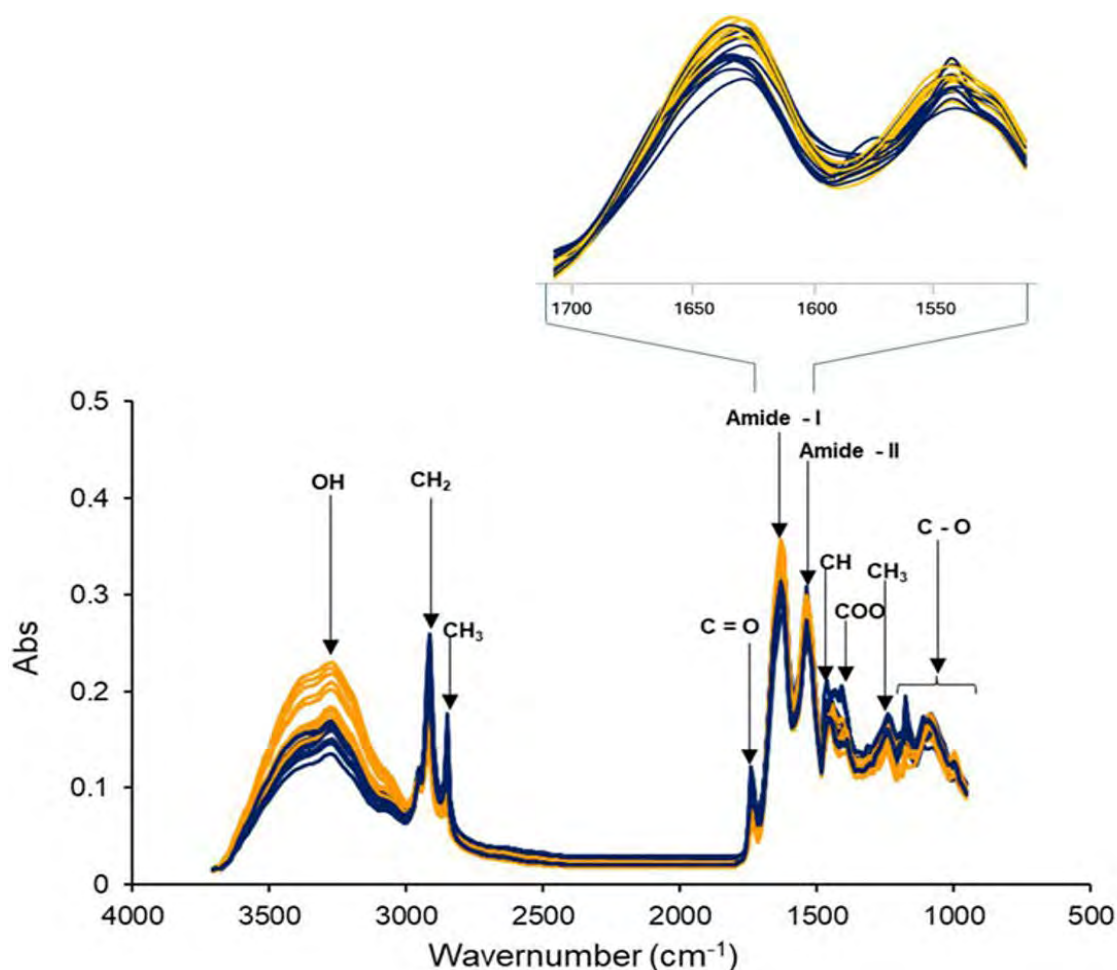


Figura 4. **Figure 1.** FT-IR-ATR selected spectra of waxed dry cheese at two ripening times: 7 days (—) and 30 days (—). Most relevant bands were assigned according to different functional groups.

3.3.3. Partial least squares – discriminant analysis (PLS-DA)

Several authors have highlighted the utility of applying multivariate statistical methods to the spectroscopic analysis of cheeses for purposes such as identification, authentication, and quality control, ripening monitoring, among others (Maestrello et al., 2024; Visconti et al., 2024). In the study herein described, the evaluation of the waxed dry cheese maturation process was conducted in two

stages: first through principal component analysis (PCA), followed by partial least squares – discriminant analysis (PLS-DA), using FT-IR-ATR spectral bins as input variables. To achieve this, FT-IR-ATR data preprocessing steps were applied, including binning, filtering, and scaling (Mokari et al., 2023). Binning facilitated data reduction, while variance and abundance filtering, based on the median absolute deviation and mean intensity value, respectively, were employed to minimize data dispersion. Finally, Pareto scaling (mean-centred divided by the square root of the standard deviation of each variable) was applied to reduce the influence of large values resulting from the strongest vibrations also minimizing noise impact (Khalighi et al., 2024).

The goal of PCA is to reduce the dimensionality of the input variables to create a smaller dataset by selecting variables with significant variance (Fattahi et al., 2024). In addition, PCA has been proposed as a practical indicator of the reliability of further discriminant analysis such as PLS-DA and orthogonal PLS-DA (Worley and Powers, 2016). In this study, the PCA model was used as an exploratory tool to verify similarities among samples. Visual inspection of scores and loading plots was used to identify potential clustering distribution. To perform the PCA of waxed dry cheese from FT-IR-ATR data, the MetaboAnalyst 6.0 platform was used. As shown in the PCA plots included in the Supplementary Material file (Figure SM1), the model reached a 93.3% of variance explained with three components. However, the 3D score plot (PC1 vs PC2 vs PC3) revealed a slight overlap between Hotelling's ellipses.

Subsequently, PLS-DA was applied to the spectra to address the clusters overlap, identify the most important variables, and select those that contributed significantly to sample discrimination. The resulting PLS-DA model (also generated using MetaboAnalyst 6.0) was calculated with eight components, which accounted for 99.7% of the cumulative variance (Figure 2a). However, to determine the optimal number of components that adequately describe the model, the first derivative method of cumulative variance was used to identify the inflection point. The inflection point, where slope changes, served as the selection

criterion for the optimal number of components (Figure 2b). Thus, three principal components were established for the PLS-DA model, representing 90% of the cumulative variance (PC1: 64.8%, PC2: 13.2%, PC3: 12%). According to Lei et al., (2019), correct classification rates for the validation set in a PLS-DA model are achieved when the selected number of components explains more than 80% of the data in relation to the model. In the PLS-DA model derived from waxed dry cheese this criterion was achieved.

Figure 2c presents the three-dimensional plot of the first three components of the PLS-DA model, showing distinguishable clustering related to the ripening time of the waxed dry cheese. This cluster distribution indicates that despite cheese spectra having a very similar band profile, they also exhibit differential characteristics depending on ripening times. This finding aligns with results reported by Vásquez et al. (2018), who observed a correlation between spectral profile changes and ripening times in Swiss-type cheeses. Finally, Figure 2d displays the PLS-DA loading plot based on three components, representing 90% of the model's variance explanation. In this plot, the distribution of loadings allowed to distinguishing variables related to samples clustering. Specifically, for waxed dry cheese, this plot enabled visualization of the differential variables associated with ripening time.

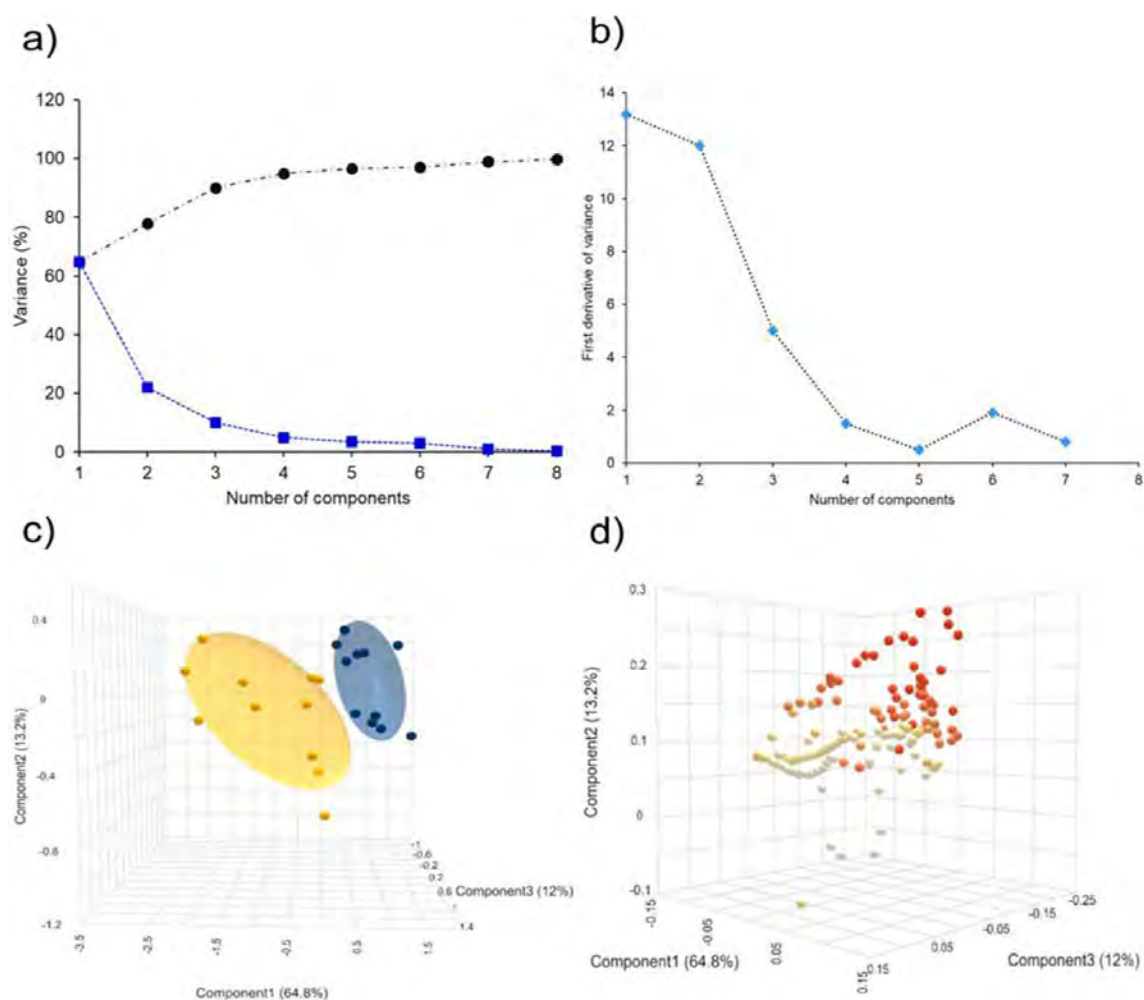


Figure 5. **Figure 2.** PLA-DA of FT-IR-ATR data of waxed dry cheese. a) accumulated variance contributions plot for each component in the PLS-DA model: number of model components (●) and model accumulated variance days (●); b) first derivative of variance cumulative contributions showing the inflection point (slope change) at principal component number 3; c) 3D score plot of the PLS-DA model at 7 days (●) and 30 days (●) of ripening; and, d) 3D loading plot of the PLS-DA model, the marker became reddish as its contribution to differentiate groups increase.

In discriminant methods, a high number of variables combined with a small sample size tends to lead to data overfitting. To ensure the reliability of the waxed dry cheese PLS-DA model, cross validation was performed based on accuracy, R^2 , and Q^2 . Accuracy is particularly relevant because it measures the performance of the model and indicates how well different groups (or classes) are distinguished. R^2 indicates model's data variation, while Q^2 evaluates its

predictive capability for new data. For the three-component PLS-DA model, the accuracy, R^2 , and Q^2 values obtained were 0.900, 0.831, and 0.616, respectively. Although the ideal value for these parameters is 1, achieving such values is challenging due to the inherent variation among samples of the same class (Westerhuis et al., 2008). In fact, a cut-off value above 0.5 is considered as acceptable (Xu et al., 2024). Furthermore, permutation tests provide an additional approach to determining whether the classification into groups is statistically significant, also useful to identifying potential misclassifications. The resulting permutation test plots obtained in MetaboAnalyst (Figure SM2 in Supplementary Material) exhibits a rightward-extended distribution, indicating that the separation between the two groups becomes increasingly significant as the number of permutations increases. In this way, cross-validation and permutation tests demonstrated the reliability of the PLS-DA model derived from FT-IR-ATR data of waxed dry cheese in discriminating between ripening times. As previously noted, in the waxed dry cheese FT-IR-ATR spectra, signal intensity changes characterize the different maturation stages, similar results were also reported for cheddar cheese (Dewantier et al., 2023). Fig. 3 presents the main VIP (variable importance in projection) values obtained in the first three components of the PLS-DA analysis, where changes were observed across various spectral regions. In the $3482\text{--}3336\text{ cm}^{-1}$ region (Figure 3a), a decrease in spectral vibrations associated with water was identified, indicating water loss during cheese maturation. This process is likely influenced by syneresis and leads to an increase in cheese firmness (Fox et al., 2017). Additionally, an increase in peaks intensity was observed in the spectral region of $2912\text{ and }2849\text{ cm}^{-1}$ (Figure 3b), a region associated with fatty acids. This behaviour has been related to the hydrolysis of triglycerides by milk lipases, resulting in the release of free fatty acids (De Jesus et al., 2020). In addition, Andrade et al. (2018), reported that lipolysis occurring in most ripened cheeses causes shifts in absorption bands linked to CH_2 and CH_3 functional groups. Both reports are in close correspondence with our findings.

In Figure 3c, changes in band profile are observed in the region of 1633 , 1623 , and 1612 cm^{-1} during the ripening process of waxed dry cheese. According to

Yaman et al. (2022) the spectral range of 1680 a 1533 cm^{-1} , is associated to amide I and amide II bands. The amide I vibration primarily results from the C = O stretching of proteins, along with contribution of C–N and –NH stretching. The out-of-plane stretching of –NH, C–N, and stretching of C–O, C–C, N–C, generate the amide II band. Additionally, Barth (2007) reported that in the wavenumber range of 1633 to 1612 cm^{-1} , bands are mainly related to certain amino acids, including arginine (1633–1614 cm^{-1}), histidine (1631 cm^{-1}), lysine (1626–1629 cm^{-1}), tyrosine (1614–1621 cm^{-1}), and asparagine (1612 cm^{-1}). This molecular fingerprint related to proteins content could be related to the changes observed in the waxed dry cheese infrared spectra. Finally, the dendrogram and heatmap from PLS-DA model showed the clustering related to wave number variables, confirming the differences associated with the ripening process (shown in Figure SM3 in Supplementary Material).

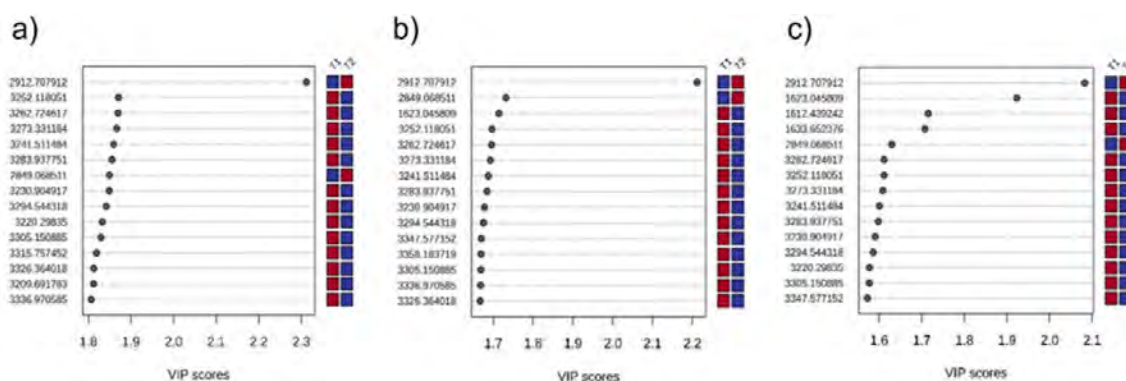


Figure 6. **Figure 3.** VIP score plot (high; low) from the first three principal components used in the PLS-DA analysis, T1 (7 days) and T2 (30 days); a) VIP scores for the first principal component; b) VIP scores for the second principal component; and c) VIP scores for the second principal component; and c) VIP scores for the third principal component

FT-IR-ATR spectroscopy provides an accessible analytical tool for waxed dry cheese production. FT-IR-ATR has been proven to assess the yield and composition of the products (Margolies and Barbano, 2018); provide a strategy to establish quality parameters (Ayvaz et al., 2021), and in the case of waxed dry cheese, monitoring changes during maturation. FT-IR-ATR was conducted to characterize the unique fingerprint of this artisanal cheese made from raw bovine

milk, which supports authenticity and provides added value. However, despite the results described herein, complementing the study of waxed dry cheese with chemometric models based on NMR and FT-NIR spectral data would be desirable. These highly robust techniques for cheese analysis could provide new insights into the characterization of this emblematic product from Southern Mexico.

3.4. Conclusion

Through infrared spectroscopic methods, the distinctive fingerprint of the artisanal waxed dry cheese produced in Oaxaca, Mexico, has been successfully characterized. The combined application of FT-NIR and FT-IR-ATR spectroscopies enabled the evaluation the physicochemical changes in waxed dry cheese throughout the ripening process. Through FT-NIR analysis the proximate composition was obtained and showed significant changes in the evaluated parameters: protein, fat, non-fat solids, salt, and total solids all showed an increase, meanwhile moisture content decreased. In the physicochemical analysis, both pH and water activity declined as ripening progressed. Mid-infrared spectroscopy by FT-IR-ATR, coupled with robust chemometric techniques, such as PLS-DA, effectively discriminated cheese samples based on ripening time. The main functional groups identified were closely associated with lipids, proteins, and carbohydrates. These changes correlate with key biochemical processes in cheese ripening, such as proteolysis, lipolysis, and carbohydrate catabolism. Finally, through infrared spectroscopic methods, the distinctive fingerprint of the artisanal waxed dry cheese produced in Oaxaca, Mexico, has been successfully characterized. It facilitates the monitoring of the ripening process, offers new insights into attributes associated with its distinctive characteristics, and provides added value to this emblematic product. However, a study with a larger sample size is necessary to accurately determine the geographical origin and elucidate the biochemical mechanisms responsible for the changes observed through infrared spectroscopy.

Supplementary material. The supplementary material for this article can be found at <https://doi.org/10.1017/S0022029925101325>.

Acknowledgements. The authors thank the Universidad Autónoma Chapingo for funding from the Dirección General de Investigación y Posgrado through Project 23001-DTT-62. VMA thanks the Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología for the doctoral scholarship granted to carry out this research.

Conflict of interest. The authors declare that they have no competing interests.

Author contributions. General methodology and acquisition of spectra, EESP and VMA; validation of spectra, chemometric analysis and original manuscript, ALS and VMA; review and editing (all authors); acquisition of funding, AHM. All authors have read and approved the published version of the manuscript.

3.5. References

- Andrade J, Pereira CG, Ranquine T, Azarias CA, Bell MJV and De Carvalho Dos Anjos V (2018) Long-term ripening evaluation of ewes' cheeses by Fourier-transformed infrared spectroscopy under real industrial conditions. *Journal of Spectroscopy* 1381864(1), 1–9. doi:10.1155/2018/1381864.
- Ayvaz H, Mortas M, Dogan MA, Atan M, Yildiz Tiryaki G and Karagul Yuceer Y (2021) Near- and mid-infrared determination of some quality parameters of cheese manufactured from the mixture of different milk species. *Journal of Food Science and Technology* 58(10), 3981–3992. doi:10.1007/s13197-020-04861-0.
- Barth A (2007) Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica Et Biophysica Acta - Bioenergetics* 1767(9), 1073–1101. doi:10.1016/j.bbabbio.2007.06.004.
- Beresford T and Williams A (2004) The microbiology of cheese ripening. Fox PF, McSweeney PLH, Cogan TM and Guinee TP (eds.), *Cheese: chemistry, Physics and Microbiology*. Academic Press, London, UK, Vol. 1, pp. 227–317. 10.1016/S1874-558X(04)80071-X.
- Bittante G, Patel N, Cecchinato A and Berzaghi P (2022) Invited review: a comprehensive review of visible and near-infrared spectroscopy for predicting the chemical composition of cheese. *Journal of Dairy Science* 105(3), 1817–1836. doi:10.3168/jds.2021-20640.
- Califano AN and Bevilacqua AE (2000) Multivariate analysis of the organic acids content of gouda type cheese during ripening. *Journal of Food Composition and Analysis* 13(6), 949–960. doi:10.1006/jfca.2000.0930.
- Canadian Institutes for Health Research. (2024). *MetaboAnalyst 6.0*. Available at <https://www.metaboanalyst.ca/home.xhtml> (accessed 5 July 2024).
- Cardin M, Cardazzo B, Mounier J, Novelli E, Coton M and Coton E (2022) Authenticity and typicity of traditional cheeses: a review on geographical origin authentication methods. *Foods* 11(21), 1–24. doi:10.3390/foods11213379.
- Cardin M, Mounier J, Coton E, Cardazzo B, Perini M, Bertoldi D, Pianezze S, Segato S, Di Camillo B, Cappellato M, Coton M, Carraro L, Currò S, Lucchini R, Mohammadpour H and Novelli E (2024) Discriminative power of DNA-based, volatilome, near infrared spectroscopy, elements and stable isotopes methods for the origin authentication of typical Italian mountain cheese using sPLS-DA modeling. *Food Research International* 178, 11–18. doi:10.1016/j.foodres.2024.113975.
- Castro-González NP, Calderón-Sánchez F, Castro de Jesús J, Moreno- Rojas R, Tamariz-Flores JV, Pérez-Sato M and Soní-Guillermo E (2018) Heavy metals in cow's milk and cheese produced in areas irrigated with waste water in Puebla, Mexico. *Food Additives and Contaminants: Part B* 11(1), 33–36. doi:10.1080/19393210.2017.1397060.

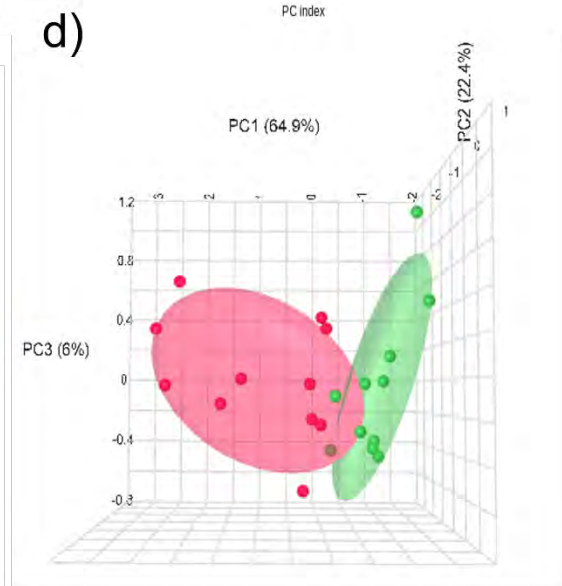
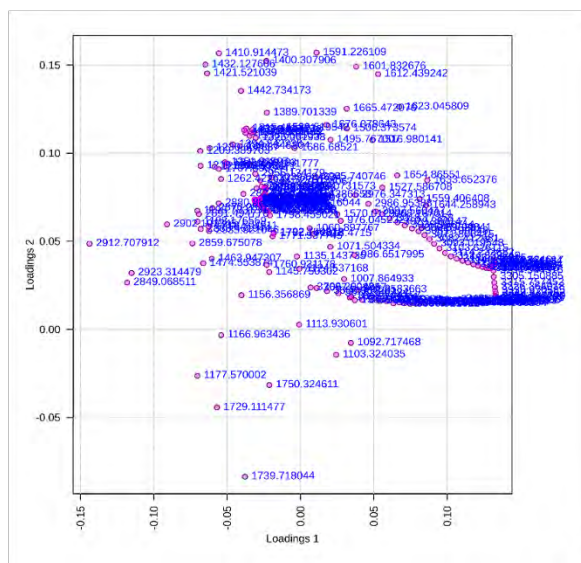
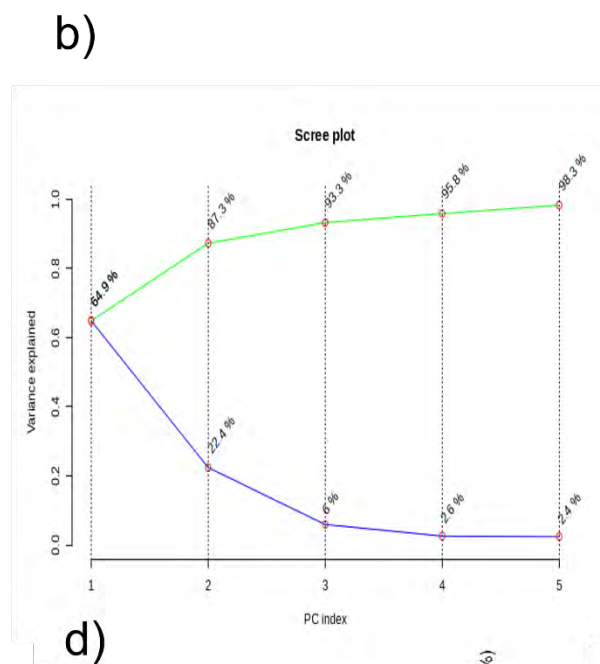
- Das C, Chowdhury BN, Chakraborty S, Sikdar S, Saha R, Mukherjee A, Karmakar A and Chattopadhyay S (2021) A diagrammatic approach of impedimetric phase angle-modulus sensing for identification and quantification of various polar and non-polar/ionic adulterants in milk. *LWT* 136, 110347. doi:10.1016/j.lwt.2020.110347.
- De Jesus JC, Silva GJ, Gonçalves BH, De Souza MR, Santos LS and Ferrão SPB (2020) Quick identification of the time of maturation of artisanal Minas cheese by FTIR-ATR spectroscopy and multivariate techniques. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 31(10), 2000–2011. doi:10.21577/0103-5053.20200100.
- Dewantier GR, Torley PJ and Blanch EW (2023) Identifying chemical differences in cheddar cheese based on maturity level and manufacturer using vibrational spectroscopy and chemometrics. *Molecules* 28(24), 8051. doi:10.3390/molecules28248051.
- Di Donato F, Biancolillo A, Foschi M and D'Archivio AA (2022) Application of SPORT algorithm on ATR-FTIR data: a rapid and green tool for the characterization and discrimination of three typical Italian Pecorino cheeses. *Journal of Food Composition and Analysis* 114, 104784. doi:10.1016/j.jfca.2022.104784.
- Fattahi SH, Kazemi A, Khojastehnazhand M, Roostaei M and Mahmoudi A (2024) The classification of Iranian wheat flour varieties using FT-MIR spectroscopy and chemometrics methods. *Expert Systems with Applications* 239, 122175. doi:10.1016/j.eswa.2023.122175.
- Foschi M, Biancolillo A, Reale S, Poles F and D'Archivio A (2025) Classification of “Ricotta” whey cheese from different milk and Designation of Origin-protected samples through infrared spectroscopy and chemometric analysis. *Journal of Food Composition and Analysis* 138, 107019. doi:10.1016/j.jfca.2024.107019.
- Fox PF, Guinee TP, Cogan TM and McSweeney PLH (2017) Chemistry of milk constituents. In *Fundamentals of Cheese Science*. Springer, New York, US, pp. 71–104. doi:10.1007/978-1-4899-7681-9_4
- Gan HH, Yan B, Linforth RST and Fisk ID (2016) Development and validation of an APCI-MS/GC-MS approach for the classification and prediction of Cheddar cheese maturity. *Food Chemistry* 190, 442–447. doi:10.1016/j.foodchem.2015.05.096.
- González-Córdova AF, Yescas C, Ortiz-Estrada ÁM, De la Rosa-Álcaraz MDLÁ, Hernández-Mendoza A and Vallejo-Cordoba B (2016) Invited review: artisanal Mexican cheeses. *Journal of Dairy Science* 99(5), pp. 3250–3262. doi:10.3168/jds.2015-10103.
- Guinee TP and Fox PF (2017) Salt in cheese: physical, chemical and biological aspects. *Cheese: chemistry, physics and microbiology: fourth Edition*. Elsevier Inc, Vol. 1, Academic Press, London, UK. pp. 317–375. doi:10.1016/B978-0-12-417012-4.00013-2.

- Herman-Lara E, Bolívar-Moreno D, Toledo-Lopez VM, Cuevas-Glory LF, Lope-Navarrete MC, Barron-Zambrano JA, Díaz-Rivera P and Ramírez-Rivera EDJ (2019) Minerals multi-element analysis and its relationship with geographical origin of artisanal Mexican goat cheeses. *Food Science and Technology (Brazil)* 39, 517–525. doi:10.1590/fst.23918.
- Jo Y, Benoist DM, Ameerally A and Drake MA (2018) Sensory and chemical properties of Gouda cheese. *Journal of Dairy Science* 101(3), 1967–1989. doi:10.3168/jds.2017-13637.
- Kaczyński ŁK (2024) Analysis of water activity and gloss of stored goat cheeses according to consumer preferences and tastes. *Foods* 13(23), 3789. doi:10.3390/foods13233789.
- Karamoko G and Karoui R (2024) Physicochemical, rheology, and mid-infrared spectroscopy techniques for the characterization of artisanal and industrial Maroilles cheeses. *Foods* 13(3086), 1–17.
- Khalighi S, Ma L, Ren S and Varveri A and August (2024) Evaluating the impact of data pre-processing methods on classification of ATR-FTIR spectra of bituminous binders. *Fuel* 376, 132701. doi:10.1016/j.fuel.2024.132701.
- Lei T, Lin XH and Sun DW (2019) Rapid classification of commercial Cheddar cheeses from different brands using PLSDA, LDA and SPA–LDA models built by hyperspectral data. *Journal of Food Measurement and Characterization* 13, 3119–3129. doi:10.1007/s11694-019-00234-0.
- Maestrello V, Solovyev P, Stroppa A, Bontempo L and Franceschi P (2024) ¹H NMR profiling and chemometric analysis for ripening and production characterization of Grana Padano cheese. *Food Chemistry* 456, 139986. doi:10.1016/j.foodchem.2024.139986.
- Mamo A (2017) Cheddar cheese characterization and its biochemical change during ripening. *International Journal of Advanced Scientific Research and Management* 2(5), 53–59
- Margolies BJ and Barbano DM (2018) Determination of fat, protein, moisture, and salt content of Cheddar cheese using mid-infrared transmittance spectroscopy. *Journal of Dairy Science* 101(2), 924–933. doi:10.3168/jds.2017-13431.
- Martín-del-Campo ST, Picque D, Cosío-Ramírez R and Corrieu G (2007) Middle infrared spectroscopy characterization of ripening stages of Camembert-type cheeses. *International Dairy Journal* 17(7), 835–845. doi:10.1016/j.idairyj.2006.10.003.
- Martínez-Aquino V, Hernández-Montes A, Hernández-Rodríguez BE and Santos-Moreno A (2023) La influencia de los valores humanos en el consumo del queso Seco Encerado del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, y sus significados: el efecto mediador de los atributos tangibles. *Acta Universitaria* 33(1), 3923. <https://doi.org/10.15174.au.2023.3923>.

- Medina S, Perestrelo R, Silva P, Pereira JAM and Câmara JS (2019) Current trends and recent advances on food authenticity technologies and chemometric approaches. *Trends in Food Science and Technology* 85, 163–176. doi:10.1016/j.tifs.2019.01.017.
- Mokari A, Guo S and Bocklitz T (2023) Exploring the steps of Infrared (IR) spectral analysis: pre-processing, (classical) data modelling, and deep learning. *Molecules* 28(19), 1–21. doi:10.3390/molecules28196886.
- Molle A, Cipolat-Gotet C, Stocco G, Ferragina A, Berzaghi P and Summer A (2024) The use of milk fourier-transform infrared spectra for predicting cheesemaking traits in Grana Padano protected designation of origin cheese. *Journal of Dairy Science* 107(4), 1967–1979. doi:10.3168/jds.2023-23827.
- Özcan Yardım D and Durak MZ (2023) Identification of antihypertensive bioactive peptides in the herby and white cheeses produced from different milk types. *European Food Research and Technology* 249(9), 2265–2272. doi:10.1007/s00217-023-04293-y.
- Sakkas L, Pappas CS and Moatsou G (2021) FT-MIR analysis of water-soluble extracts during the ripening of sheep milk cheese with different phospholipid content. *Dairy* 2(4), 530–541. doi:10.3390/dairy2040042.
- Sardiñas-Valdés M, García-Galindo HS, Chay-Canul AJ, Velázquez- Martínez JR, Hernández-Becerra JA and Ochoa-Flores AA (2021) Ripening changes of the chemical composition, proteolysis, and lipolysis of a hair sheep milk Mexican Manchego-style cheese: Effect of nano-emulsified curcumin. *Foods* 10(7), 1579. doi:10.3390/foods10071579.
- Silva LKR, Jesus JC, Onelli RRV, Conceição DG, Santos LS and Ferrão SPB (2021) Discriminating Coalho cheese by origin through near and middle infrared spectroscopy and analytical measures. discrimination of coalho cheese origin. *International Journal of Dairy Technology* 74(2), 393–403. doi:10.1111/1471-0307.12767.
- Silva LKR, Santos LS and Ferrão SPB (2022) Application of infrared spectroscopic techniques to cheese authentication: A review. *International Journal of Dairy Technology* 75(3), 490–512. doi:10.1111/1471-0307.12859.
- Skoog DA, Holler FJ and Crouch SR (2018) *Principios de Análisis Instrumental*. Skoog DA, Holler FJ and Crouch SR eds., 6a. Cengage Learning, Boston, MA, https://books.google.com.mx/books/about/principios_de_analisis_instrumental_7oED.html?id=XkDqwQEACAAJ&redir_esc=y.
- Sousa MJ, Ard Y and Mcsweeney PLH (2001) Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal* 11, 327–345.
- Stocco G, Cipolat-Gotet C, Ferragina A, Berzaghi P and Bittante G (2019) Accuracy and biases in predicting the chemical and physical traits of many

- types of cheeses using different visible and near-infrared spectroscopic techniques and spectrum intervals. *Journal of Dairy Science* 102(11), 9622–9638. doi:10.3168/jds.2019-16770.
- Sysi-Aho M, Katajamaa M, Yetukuri L and Orešič M (2007) Normalization method for metabolomics data using optimal selection of multiple internal standards. *BMC Bioinformatics* 8. doi:10.1186/1471-2105-8-93.
- Tarapoulouzi M, Entrenas JA, Pérez-Marín D, Pashalidis I and Theocharis CR (2024) A preliminary study on determining seasonal variations in halloumi cheese using near-infrared spectroscopy and chemometrics. *Processes* 12(7). doi:10.3390/pr12071517.
- Thierry A, Collins YF, Abejón Mukdsi MC, McSweeney PLH, Wilkinson MG and Spinnler HE (2017) Lipolysis and metabolism of fatty acids in cheese. *Cheese: chemistry, Physics and Microbiology: fourth Edition*. Elsevier Inc, Vol. 1, Elsevier, Amsterdam. pp. 423–444. doi:10.1016/B978-0-12-417012-4.00017-X.
- Thodis P, Kosma IS, Nesseris K, Badeka AV and Kontominas MG (2023) Evaluation of a new bulk packaging container for the ripening of Feta cheese. *Foods* 12(11), 1–20. doi:10.3390/foods12112176.
- Torres-Salas V, Hernández-Montes A and Hernández-Rodríguez BE (2023) Análisis sensorial, textural y actividad antioxidante de queso Añejo de Zacazonapan durante la maduración. *Biotecnia* 25(2), 204–213. doi:10.18633/biotecnia.v25i2.1897.
- Torres-Salas V, Hernández-Rodríguez BE, Hernández-Montes A, Castillo E, Zuleta-Prada H and Herbert-Pucheta JE (2021) Solid-state NMR spectroscopy for disentangling structural and motional features of lyophilized ripened cheese water-soluble extracts related to antimicrobial activity. *Food Chemistry* 334, 127603. doi:10.1016/j.foodchem.2020.127603.
- Valletta M, Ragucci S, Landi N, Di Maro A, Pedone PV, Russo R and Chambery A (2021) Mass spectrometry-based protein and peptide profiling for food frauds, traceability and authenticity assessment. *Food Chemistry* 365, 130456. doi:10.1016/j.foodchem.2021.130456.
- Vásquez N, Magán C, Oblitas J, Chuquizuta T, Avila-George H and Castro W (2018) Comparison between artificial neural network and partial least squares regression models for hardness modeling during the ripening process of Swiss-type cheese using spectral profiles. *Journal of Food Engineering* 219, 8–15. doi:10.1016/j.jfoodeng.2017.09.008.
- Visconti LG, Diniz PHGD, de Sousa Fernandes DD, Rodriguez MS and Di Anibal CV and July (2024) Authentication of grated hard cheeses and quantification of adulteration by FT-NIR spectroscopy and multivariate analysis. *International Dairy Journal* 158, 106035. doi:10.1016/j.idairyj.2024.106035.

- Westerhuis JA, Hoefsloot HCJ, Smit S, Vis DJ, Smilde AK, Velzen EJJ, Duijnhoven JPM and Dorsten FA (2008) Assessment of PLS-DA cross validation. *Metabolomics* 4(1), 81–89. doi:10.1007/s11306-007-0099-6.
- Worley B and Powers R (2016) PCA as a Practical Indicator of OPLS-DA Model Reliability. *Current Metabolomics* 4(2), 97–103. doi:10.2174/2213235x04666160613122429.
- Xu S, Bai C, Chen Y, Yu L, Wu W and Hu K (2024) Comparing univariate filtration preceding and succeeding PLS-DA analysis on the differential variables/metabolites identified from untargeted LC-MS metabolomics data. *Analytica Chimica Acta*, 1287, 342103. 10.1016/j.aca.2023. 342103.
- Yaman H, Aykas DP, Jiménez-Flores R and Rodríguez-Saona LE (2022) Monitoring the ripening attributes of Turkish white cheese using miniaturized vibrational spectrometers. *Journal of Dairy Science* 105(1), 40–55. doi:10.3168/jds.2021-20313



62

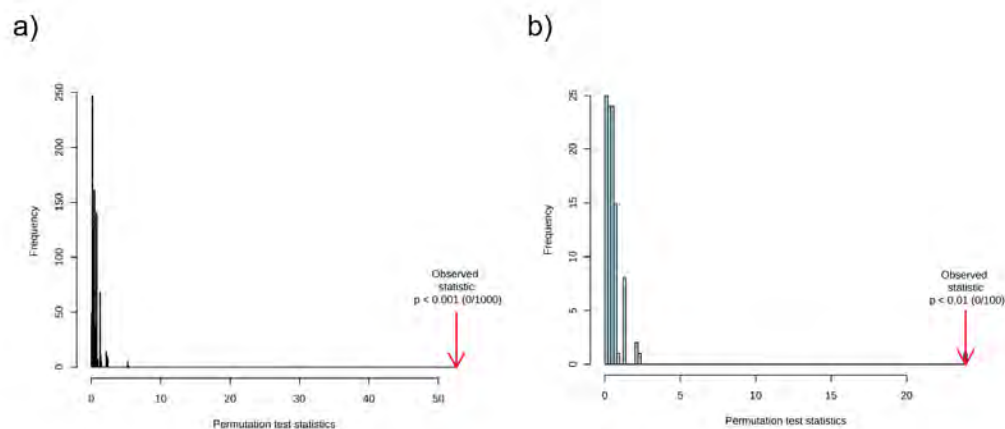


Figure 8. **Figure SM2.** Permutation test plots of the PLS-D model, using B/W separation distance, and set permutation numbers of a) 100 and b) 1000. As the distribution extends further to the right, the separation between the two groups becomes increasingly significant with p-value <0.01 and <0.001 , respectively.

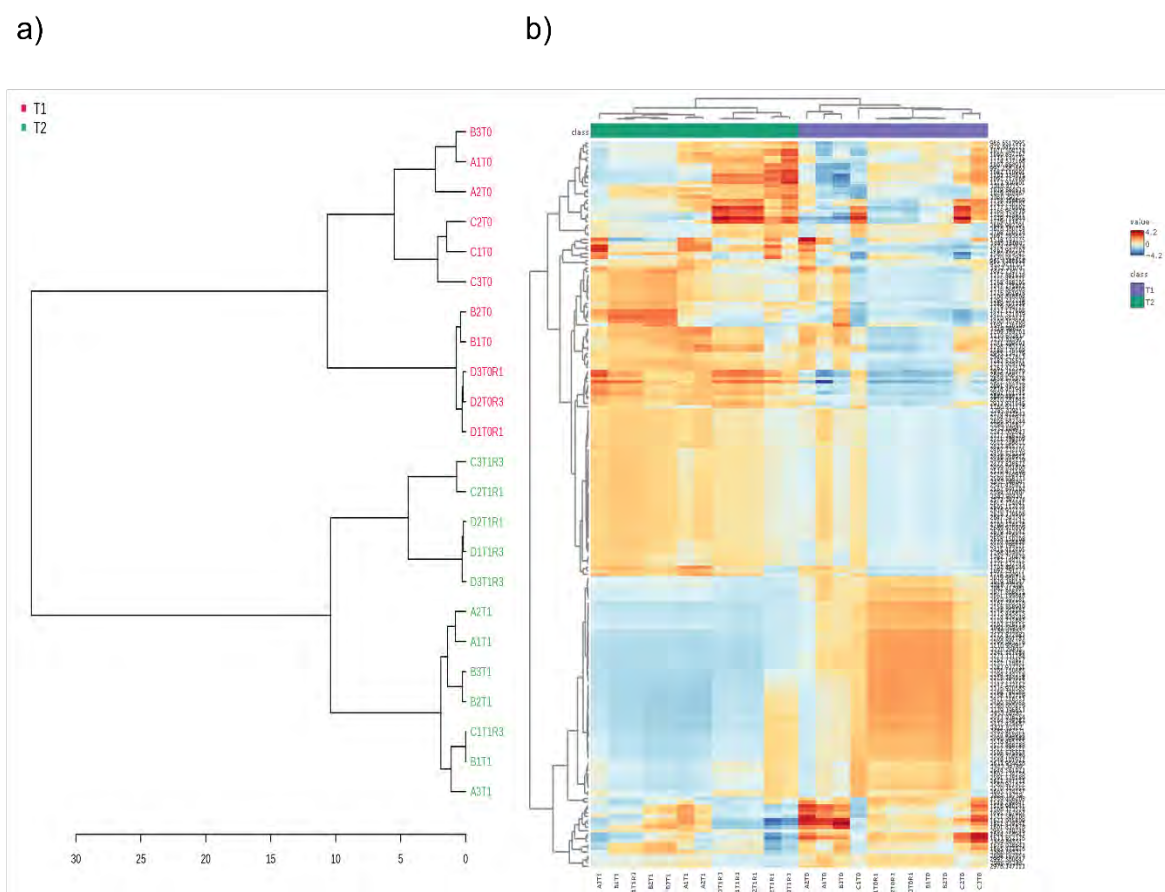


Figura 9. **Figure SM3.** Plots obtained from the PLS-DA model: Dendrogram and Heatmap of FT-IR-ATR spectra of dry waxed cheese samples in the PLS-DA.

4. DINÁMICA DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DURANTE LA MADURACIÓN Y SU EFECTO SOBRE EL PERFIL SENSORIAL DEL QUESO SECO ENCERADO DE OAXACA, MÉXICO[♢]

Resumen

Los quesos tradicionales son una expresión gastronómica y cultural de cada región, caracterizándose por atributos derivados de sus procesos de producción artesanal. Durante la maduración del queso ocurren diferentes eventos bioquímicos: proteólisis, lipólisis y glucólisis, inducidos principalmente por enzimas. El objetivo de esta investigación fue determinar los cambios producidos durante la maduración del queso Seco Encerado en dos periodos (7 y 30 d), se analizaron muestras procedentes de cuatro queserías artesanales (A, B, C y D). La evaluación de la maduración incluyó la determinación de proteína soluble, grado de hidrólisis, actividad enzimática (proteasa, lipasa y esterasa), perfil de pesos moleculares mediante SDS-PAGE y un perfil sensorial descriptivo rápido. Los resultados mostraron incrementos en proteína soluble: 8.3 mg mL⁻¹ (7 d) a 15.96 mg mL⁻¹ (30 d); el grado de hidrólisis: 8.3 % (7 d) a 8 % (30 d); y, las actividades enzimáticas también aumentaron: proteasa (0.3 a 2.2 U L⁻¹), lipasa (0.3 a 2 U L⁻¹) y esterasa (0.3 a 5.28 U L⁻¹), a los 7 y 30 d respectivamente. Se identificaron proteínas de alto peso molecular (> 45 kDa), caseínas (25 kDa) y péptidos (≤ 10 kDa). En el perfil sensorial los quesos A, B y D se caracterizaron por un color amarillo, aroma a fermentado, olor intenso a queso, dureza en boca, sabor a leche/mantequilla y sabor ácido, mientras que, los quesos C, presentaron sabor salado, desmoronable al tacto y porosidad visual. En esta investigación, se relacionaron los cambios generados por las enzimas con la producción de compuestos y metabolitos, asociados a las características sensoriales. Las diferencias entre queserías reflejan su identidad regional y potencial de valorización. Este estudio, al integrar análisis bioquímicos y sensoriales, aporta herramientas innovadoras para optimizar la calidad y fortalecer el posicionamiento comercial de este producto tradicional.

Palabras clave: Queso Seco Encerado, Maduración del queso, Proteólisis, Actividad enzimática, Perfil sensorial

[♢] Tesis Doctoral en Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: M. C. Valeria Martínez Aquino

Director de Tesis: Arturo Hernández Montes, Ph.D.

DYNAMICS OF ENZYMATIC ACTIVITY DURING RIPENING AND ITS EFFECT ON THE SENSORY PROFILE OF *SECO ENCERADO* CHEESE FROM OAXACA, MEXICO^δ

Abstract

Traditional cheeses are a gastronomic and cultural expression of each region, characterized by attributes derived from their artisanal production processes. During cheese ripening, different biochemical events occur proteolysis, lipolysis, and glycolysis, mainly induced by enzymes. The objective of this research was to determine the changes produced during the ripening of *Seco Encerado* Cheese in two periods (7 and 30 days). Samples from four artisanal cheesemakers (A, B, C, and D) were analyzed. The evaluation of ripening included determination of soluble protein, degree of hydrolysis, enzymatic activity (protease, lipase, and esterase), molecular weight profile by SDS-PAGE, and a rapid descriptive sensory profile. The results showed increases in soluble protein: 8.3 mg mL⁻¹ (7 d) to 15.96 mg mL⁻¹ (30 d); degree of hydrolysis: 8.3 % (7 d) to 8 % (30 d); and enzymatic activities also increased: protease (0.3 to 2.2 U L⁻¹), lipase (0.3 to 2 U L⁻¹), and esterase (0.3 to 5.28 U L⁻¹), at 7 and 30 days respectively. High molecular weight proteins (> 45 kDa), caseins (25 kDa), and peptides (≤10 kDa) were identified. In the sensory profile, cheeses A, B, and D were characterized by yellow color, fermented aroma, propionic acid odor, mouth hardness, milk/butter flavor, and acidic taste, while cheeses C presented salty flavor, crumbly texture, and visual porosity. In this research, the changes generated by enzymes were related to the production of compounds and metabolites associated with sensory characteristics. Differences among cheesemakers reflect their regional identity and valorization potential. This study, by integrating biochemical and sensory analyses, provides innovative tools to optimize quality and strengthen the commercial positioning of this traditional product.

Keywords: Seco Encerado Cheese, Cheese Ripening, Proteolysis, Enzymatic Activity, Sensory Profile.

^δ Doctoral Thesis en Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo
Author: M. C. Valeria Martínez Aquino
Advisor: Arturo Hernández Montes, Ph.D.

4.1. Introducción

El queso es un producto derivado de la coagulación parcial o completa de la leche mediante la aplicación de un agente coagulante en combinación con uno o más ingredientes (Kamimura et al., 2019). Este producto forma parte esencial de la dieta humana en diversas regiones del mundo, históricamente ha sido consumido y producido durante miles de años (Marco et al., 2021). La producción de quesos se da mediante procesos industriales o artesanales, siendo esta última categoría la que ha tomado interés en los últimos años, debido a la creciente demanda de alimentos producidos mediante métodos naturales, conservación y procesamiento mínimo, esto refleja las preferencias modernas de los consumidores por alimentos más saludables y con menor contenido de ingredientes artificiales (Szűcs et al., 2019).

En el contexto de los quesos tradicionales, son definidos como representaciones alimentarias de un patrimonio cultural y son el resultado del conocimiento empírico transmitido de generación en generación, además se encuentran fuertemente ligados con su territorio de origen, reflejan la cultura local de los productores y de la región (Berno & Fusté-Forné, 2020). Los quesos tradicionales presentan características únicas de calidad, las cuales dependen de diversos factores como son: las condiciones ambientales (Senoussi et al., 2022), alimentación y raza del ganado, tecnología de elaboración del queso, prácticas de producción locales, tipo de leche usada (cruda o pasteurizada) y la microbiota nativa (Šarić et al., 2016), la cual se encuentra asociada a diferentes tipos de bacterias ácido lácticas (BAL), las cuales durante sus actividades metabólicas son responsables de diferentes características sensoriales que dan origen a la gran diversidad de variedades de quesos tradicionales del mundo (Valletta et al., 2021).

La maduración es uno de los procesos más importantes durante la producción de quesos tradicionales y sus procesos bioquímicos más relevantes son la glucólisis (metabolismo de la lactosa), la lipólisis y la proteólisis (Fox et al., 2017). El principal proceso glucolítico es la conversión de la lactosa en ácido láctico y otros

ácidos orgánicos como el acético, el fórmico y el propiónico, por parte de las BAL (heterofermentativas y homofermentativas) mediante sus vías metabólicas (Tekin & Güler, 2019); mientras que en la lipólisis, la grasa es hidrolizada por acción de enzimas lipolíticas (lipasas o esterasas) para producir ácidos grasos libres (Li et al., 2023); y la proteólisis es el proceso donde se lleva a cabo la hidrólisis de proteínas a péptidos y aminoácidos libres, mediante la acción de la quimosina (EC 3.4.23.4), las proteasas nativas de la leche y las enzimas microbianas de los cultivos nativos e iniciadores (Kendirici et al., 2020).

En los últimos años, se han incrementado las investigaciones relacionadas con las enzimas, debido a que éstas tienen papel fundamental en procesos bioquímicos que determinan la calidad y funcionalidad de los alimentos (Salazar Carranza et al., 2020). En el sector lácteo, las enzimas son fundamentales para la transformación de la leche en productos derivados lácteos (Ardö, 2021). En el caso de los quesos, las enzimas desempeñan un papel muy importante durante el proceso de maduración, ya que influyen directamente en el desarrollo de textura, sabor y aroma, atributos sensoriales que condicionan la aceptación del producto por parte de los consumidores (Fox et al., 2015). La maduración implica reacciones complejas entre enzimas autóctonas de la leche, enzimas microbianas y coagulantes, que catalizan reacciones de proteólisis, lipólisis y glicólisis, generando compuestos precursores de aroma y sabor (Ardö, 2021; Mandal et al., 2025). A continuación, se describen los principales grupos de enzimas de relevancia en los quesos:

Las proteasas (EC 3.4.x) o también conocidas como enzimas proteolíticas, constituyen un amplio grupo de enzimas, con diferentes especificidades de sustrato, sitios activos, mecanismos catalíticos, pH óptimos, temperaturas óptimas y perfiles de estabilidad (Martínez-Medina et al., 2019). Las enzimas lácteas con actividad proteolítica provienen de diferentes fuentes: enzimas autóctonas de la leche, coagulantes, bacterias lácticas iniciadoras (BAL) y organismos adjuntos, bacterias no iniciadoras y proteinasas y peptidasas exógenas (Ardö et al., 2017). Algunas de las enzimas proteasas de mayor

importancia en los productos lácteos son: Plasmina (EC 3.4.21.7), Catepsina D (EC 3.4.23.5), Quimosina (EC 3.4.23.4) y Renina (EC 3.4.23.15) (Li et al., 2023). La importancia de estas enzimas se da debido a su metabolismo, ya que a partir de éste se producen diferentes cambios en los quesos, por ejemplo: El cuajo (compuesto principalmente por quimosina, EC 3.4.23.4) es un coagulante tradicional en la elaboración de quesos, con una actividad proteolítica específica que induce la transformación de la leche líquida en un gel denominado cuajada; rompiendo los enlaces peptídicos entre los residuos de fenilalanina y metionina de la κ -caseína; mientras que otros tipos de proteasas (EC 3.4.x), hidrolizan enlaces peptídicos de los aminoácidos, además participan en las vías de producción de sabor mediante la proteólisis de caseínas y también son responsables de la producción de péptidos bioactivos (Sutay Kocabaş et al., 2022).

Las lipasas (triacylglycerol lipasas, EC 3.1.1.3): son un grupo de enzimas que pertenecen a la familia de las hidrolasas, éstas son específicas para ácidos grasos de cadena larga (más de 10 átomos de carbono) e hidrolizan los enlaces éster de los triglicéridos a mono y diglicéridos, glicerol y ácidos grasos libres (Rani & Jagtap, 2019), estos últimos son responsables de los sabores fuertes en los quesos (Kendirici et al., 2020). Las lipasas desempeñan un papel positivo en la maduración del queso debido a que contribuyen al desarrollo del sabor (principalmente por lipasas autóctonas y endógenas), el aroma, y la textura; además, la producción de ácidos grasos libres contribuye directamente al sabor del queso debido a que sirven como precursores de otros compuestos de sabor, como ésteres, metilcetonas, lactonas y alcoholes secundarios. Algunas lipasas de gran importancia en los quesos producidos con leche cruda son: la lipoproteína lipasa (EC 3.1.1.34) y la fosfolipasa A1 (EC 3.1.1.32) (Sutay Kocabaş et al., 2022).

Las esterasas (carboxilesterasas, EC 3.1.1.1) son un grupo de enzimas que pertenecen al grupo de las hidrolasas, presentan una amplia especificidad, generalmente siguen la cinética enzimática descrita por Michaelis-Menten; estas

enzimas catalizan la hidrólisis y la síntesis de enlaces éster, actúan sobre sustratos solubles en agua compuestos por ácidos grasos de cadena corta (menos de 10 átomos de carbono) (Thierry et al., 2017). Se han caracterizado previamente varias esterasas de bacterias lácticas como *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Streptococcus thermophilus* y *Enterococcus faecium*; estas enzimas presentan una actividad óptima en un intervalo de temperatura de 30 a 45 °C, dependiendo de las cepas consideradas, así como en un pH neutro o ligeramente alcalino (Amina et al., 2020).

En el caso de México se han identificado alrededor de 60 quesos tradicionales (González-Córdova et al., 2016), sin embargo, existe nula información que cuantifique las actividades enzimáticas que se desarrollan durante los procesos de maduración de los quesos tradicionales mexicanos. En este contexto, en la presente investigación se estudió al queso Seco Encerado, producto tradicional mexicano elaborado de manera artesanal a partir de leche cruda de vaca en la región del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, México (Martínez-Aquino et al., 2023), por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue, evaluar los cambios durante la maduración del queso Seco Encerado, principalmente aquellos relacionados con los procesos bioquímicos: contenido de proteína soluble y grado de hidrólisis, así como las actividades enzimáticas (lipasa, proteasa y esterasa) y la distribución de pesos moleculares de las proteínas. Lo anterior, con el propósito de identificar la influencia de dichos procesos durante la maduración y su influencia en las características sensoriales del queso Seco Encerado.

4.2. Materiales y métodos

4.2.1. Objeto de estudio

Se seleccionaron cuatro queserías productoras de queso Seco Encerado ubicadas en las poblaciones de Tapanatepec (16° 22' 15" N, 94° 11' 39" W) y Zanatepec (16° 28' 35" N, 94° 20' 25" W), Oaxaca, México. El muestreo fue de tipo no probabilístico y el principal criterio de selección fue la disponibilidad de los

queseros para participar en el estudio. Las muestras de cada quesería (2 kg) se tomaron por triplicado de diferentes lotes de leche y se analizaron dos tiempos de maduración (7 y 30 d), los quesos se dejaron madurar en las diferentes queserías y una vez cumplido el tiempo de maduración requerido, fueron trasladados al laboratorio de Análisis de Productos Lácteos, ubicado en la Universidad Autónoma Chapingo, para su conservación a una temperatura de -18 °C y su posterior análisis.

4.2.2. Obtención del extracto soluble en agua

La extracción de los compuestos hidrosolubles se realizó de acuerdo con la metodología descrita por Pritchard et al., (2010), con algunas modificaciones. Se tomó una porción de 80 g de secciones aleatorias del queso y se adicionaron 240 mL de agua, esta mezcla se homogenizó por tres min en un procesador de alimentos Nutribullet® (Capital Brands, Inc., L. A, EUA), la suspensión se colocó en frascos de vidrio con tapa y los cuales se introdujeron en un baño de agua (MaxQTM 4450, Thermo Scientific, Inc., MA, EUA), a 40 °C durante 1 h a 150 rpm. Una vez transcurrido el tiempo de incubación se midió y ajustó el pH en un intervalo de 4.4 a 4.6 usando NaOH 1 N (Merck, Inc., Darmstadt, Alemania) o HCl 1 N (Merck, Inc., Darmstadt, Alemania), según fuera el caso. La separación del sobrenadante se realizó utilizando una centrífuga (5810 R, Eppendorf, Inc., Hamburgo, Alemania), a 10000 g, 4 °C durante 10 min y el sobrenadante se filtró a través de papel Whatman® 42 (Cytiva, Inc., Maidstone, Reino Unido). Los extractos acuosos se almacenaron en alícuotas de 1 y 15 mL a una temperatura de -20 °C.

4.2.3. Determinación de proteína soluble

La concentración de proteína soluble se determinó mediante la metodología descrita por Lowry (1951). El método utilizó reactivo de Folin-Ciocalteu-Fenol 0.3 N (Sigma Aldrich, Inc., St. Louis, MO, EUA) y un reactivo formador de complejo, que se preparó disolviendo Na₂CO₃ (20 %), CuSO₄·5H₂O (0.1 %), tartrato de sodio y potasio tetrahidratado (0.2 %), NaOH 0.8 N (todos los reactivos anteriores

fueron adquiridos en Merck, Inc., Darmstadt, Alemania), Dodecil sulfato de sodio o SDS 10 % (Sigma Aldrich, Inc., St. Louis, MO, EUA) y se añadió agua destilada. Como proteína estándar se utilizó albúmina sérica bovina, por sus siglas en inglés BSA (Sigma Aldrich, Inc., St. Louis, MO, EUA) mediante la cual se construyó una curva de calibración a una concentración de 0.1 mg mL^{-1} .

En el ensayo de proteína soluble se vertió una alícuota de 1 mL (20 μL de extracto + 980 μL de agua destilada), se agregó 1 mL de la solución formadora de complejo y se dejó reposar por 10 minutos a temperatura ambiente. Al término de este tiempo se agregaron 0.5 mL de reactivo de Folin- Ciocalteu-Fenol con agitación continua y se desarrolló la reacción durante 30 min a temperatura ambiente; se tomaron las lecturas de absorbancia a 750 nm, en un espectrofotómetro UV-vis (DR 5000, HACH, Inc., IA, EUA), equipado con una celda de cuarzo de 1 cm de trayectoria óptica, cada ensayo se realizó por triplicado, para cada una de las muestras.

4.2.4. Determinación del grado de hidrólisis

Los grupos amino libres se cuantificaron utilizando el método del ácido pícrico sulfónico (TNBS) propuesto por Adler-Nissen (1979). Se tomaron alícuotas de 64 μL de extracto acuoso y se mezclaron con 1 mL de solución tampón fosfato (0.2 M, pH 8.2) en un tubo de ensayo ámbar, posteriormente, se añadieron 0.5 mL de solución de TNBS al 0.01 %. La mezcla se homogeneizó e incubó en baño de agua (MaxQTM 4450, Thermo Scientific, Inc, Massachusetts, EUA) durante 30 min a 50°C en oscuridad. Una vez transcurrido el tiempo de incubación se detuvo la reacción añadiendo 1 mL de Na_2SO_3 0.1 M (Merck, Inc., Darmstadt, Alemania). La mezcla se homogeneizó nuevamente y se midió la absorbancia a 420 nm en un espectrofotómetro UV-vis (DR 5000, HACH, Inc., IA, EUA), equipado con una celda de cuarzo de 1 cm de trayectoria óptica. Se utilizó un blanco, en el cual la muestra se sustituyó por agua destila. Bajo las mismas condiciones se construyó una curva estándar de L-leucina (0 - 6 mM) (Sigma Aldrich, Inc., St. Louis, MO, EUA). Se realizaron determinaciones para cada una de las muestras por triplicado.

Se realizó una hidrólisis total en la cual se pesó 0.5 g del queso al tiempo cero de maduración y se adicionaron 2.5 mL de HCl 6 N (Sigma Aldrich, Inc., St. Louis, MO, EUA), la mezcla de reacción se incubó a 100 °C durante 24 h (EC33, Ríos Rocha S. A., CDMX, México). Después se adicionaron 2.5 mL de NaOH (Merck, Inc., Darmstadt, Alemania) y la mezcla se filtró a través de papel Whatman® 1 (Cytiva, Inc., Maidstone, Reino Unido). Al sobrenadante se aplicó la metodología descrita para los extractos acuosos. El porcentaje de grado de hidrólisis (% GH) se calculó con la ecuación 1:

$$\% \text{ GH} = \left(\frac{(\text{NH}_2)_{tx} - (\text{NH}_2)_{t0}}{(\text{NH}_2)_{\text{HT}} - (\text{NH}_2)_{t0}} \right) \times 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde: $(\text{NH}_2)_{tx}$ = cantidad de grupos α -amino libres al tiempo x de maduración; $(\text{NH}_2)_{t0}$ = cantidad de grupos α -amino libres al tiempo 7d de maduración y $(\text{NH}_2)_{\text{HT}}$ = cantidad de grupos α -amino libres totales en la muestra de queso después de una hidrólisis ácida total.

4.2.5. Determinación de actividad enzimática

4.2.5.1. Determinación de actividad proteasa

La actividad proteolítica se evaluó mediante la metodología descrita por McDonald & Chen, (1965). A una alícuota de 0.25 mL de extracto acuoso de queso, se le agregó 1 mL de solución sustrato, caseína al 1 % (m/v) (Merck Millipore, Darmstadt, Alemania). Posteriormente la mezcla se incubó a 35 °C durante una hora en una incubadora (EC33, Ríos Rocha S. A., CDMX, México) y la reacción se detuvo añadiendo 0.75 mL de ácido tricloro acético al 15 % (m/v) (Sigma Aldrich, Inc., St. Louis, MO, EUA). Los tubos se centrifugaron a 6000 rpm por 5 min y posteriormente, se mezclaron 0.25 mL del sobrenadante con 5 mL de NaOH 1 N (Merck, Inc., Darmstadt, Alemania), una vez alcalinizado el medio se agregaron 0.5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu 0.2 N (Sigma Aldrich, Inc., St. Louis, MO, EUA) a cada tubo y se dejó reaccionar en condiciones de oscuridad durante 10 min. Al término de este tiempo, se leyó absorbancia 700 nm en un espectrofotómetro UVvis (DR 5000, HACH, Inc., IA, EUA), equipado con una

celda de cuarzo de 1 cm de trayectoria óptica. Una unidad de actividad (U) corresponde a un aumento de 0.1 en la densidad óptica a 700 nm por minuto, por litro de extracto acuoso (L). La metodología se aplicó por triplicado para cada uno de los extractos. Los resultados de actividad lipasa se reportaron como unidades de actividad enzimática por litro de extracto acuoso (UL^{-1}). Todos los ensayos se realizaron por triplicado para cada una de las muestras.

4.2.5.2. Determinación de actividad lipasa

La actividad lipasa en los extractos acuosos de queso se analizó de acuerdo con el protocolo descrito por Pencreac'h & Baratti, (1996) y se aplicaron las modificaciones descritas por (Hernández-Rodríguez et al., 2009). La solución de ensayo se preparó creando una emulsión a partir de 1 volumen de una solución de p-nitrofenil palmitato (pNPP) 13.4 mM en 2-propanol (ambos reactivos, Sigma Aldrich, Inc., St. Louis, MO, EUA) a 9 volúmenes de un tampón Tris-HCl 100 mM (Sigma Aldrich, Inc., St. Louis, MO, EUA), pH 8.0 (a 45 °C), que contenía $CaCl_2$ 20 mM (Merck, Inc., Darmstadt, Alemania) y alcohol polivinílico a una concentración de 0.25 % (v/v) (Sigma Aldrich, Inc., St. Louis, MO, EUA). La mezcla de reacción contenía 2.7 mL de la emulsión y 0.3 mL de una solución enzimática adecuadamente diluida en tampón Tris-HCl 100 mM, pH 8.0 (a 45 °C). Una vez iniciada la reacción, se monitoreó la absorbancia (410 nm frente a un blanco sin enzima) durante 30 min, las mediciones se realizaron cada 10 min utilizando un espectrofotómetro UVvis (DR 5000, HACH, Inc., IA, EUA), equipado con una celda de cuarzo de 1 cm de trayectoria óptica. Bajo las mismas condiciones se realizó una curva estándar de 0 - 0.100 μ mol de p-nitrofenol, la cual se utilizó como base para determinar la actividad lipasa. Una unidad de actividad (U) se definió como la cantidad de enzima que liberó 1 μ mol de p-nitrofenol (pNP) por min a 45 °C y pH 8.0. Los resultados de actividad lipasa se reportaron como unidades de actividad enzimática por litro de extracto acuoso (UL^{-1}). Todos los ensayos se realizaron por triplicado para cada una de las muestras.

4.2.5.3. Determinación de actividad esterasa

La actividad esterasa se determinó utilizando el protocolo metodológico descrito por Fernandez-Lorente et al., (2008), el cual consiste en determinar la hidrólisis de *p*-nitrofenil butirato (pNFB) mediante una reacción enzimática que produce la liberación de *p*-nitrofenol (pNF). Se preparó la disolución de sustrato *p*-nitrofenil butirato 0.4 mM (Sigma Aldrich, Inc., St. Louis, MO, EUA) en un amortiguador de fosfatos 25 mM (Merck, Inc., Darmstadt, Alemania) a pH 7. Para iniciar la reacción se colocó 0.2 mL del extracto acuoso en un tubo ámbar y se agregó 2.5 mL de la disolución de sustrato y se dejó reposar 30 min a 25 °C en condiciones de oscuridad. Posteriormente se midió el incremento de la absorbancia durante 30 min, cada 10 min, las determinaciones se realizaron a 348 nm en un espectrofotómetro UVvis (DR 5000, HACH, Inc., IA, EUA), equipado con una celda de cuarzo de 1 cm de trayectoria óptica. Bajo las mismas condiciones se construyó una curva estándar de *p*-nitrofenol (pNF) en un intervalo de concentración de 0 a 100 μ M, la cual se utilizó como base para determinar la actividad esterasa. Una unidad (U) se definió como la cantidad de enzima necesaria para liberar 1 μ mol de pNF por litro de extracto acuoso (L), bajo las condiciones descritas con anterioridad. Los resultados de actividad lipasa se reportaron como unidades de actividad enzimática por litro de extracto acuoso (UL^{-1}). Todos los ensayos se realizaron por triplicado para cada una de las muestras.

4.2.6. Distribución de pesos moleculares

La distribución de pesos moleculares se realizó mediante la técnica de electroforesis en geles de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE, por sus siglas en inglés) propuesta por Laemmli, (1970), con las modificaciones descritas por Hernández-Rodríguez et al., 2020). Esta técnica se desarrolló empleando una cámara de electroforesis en gel Mini-Protean 2 (Bio-Rad Laboratories, Inc., CA, EUA). Se preparó una solución amortiguadora: SDS (20 % p/v), glicerol (2.5 % v/v), β -mercaptoetanol (1.0 % v/v) y azul de bromofenol (0.02 % p/v). El gel de separación (pH 8.8) estuvo constituido por SDS (0.21 %

p/v) y acrilamida (20 % p/v), mientras que el gel de concentración (pH 6.8) estuvo conformado por SDS (0.21 % p/v) y acrilamida (5 % p/v). El grosor del gel fue de 0.75 mm, con 10 cm de gel de separación y 2 cm de gel de concentración.

Las muestras fueron preparadas usando una alícuota de 30 µL del extracto acuoso con 15 µL de solución amortiguadora, la mezcla se sometió a un proceso de calentamiento a 85 °C por 15 min, con el fin de desnaturalizar las proteínas. Posteriormente en cada carril del gel de concentración se inyectaron alícuotas de 15 µL de muestra. El experimento se llevó a cabo en la cámara de electroforesis a un voltaje de 200 V durante 85 min. Las bandas de proteínas se revelaron por inmersión del gel en azul brillante Coomassie R-250 (Bio-Rad Laboratories, Inc., CA, EUA), diluido en una solución de metanol 40 % v/v, ácido acético 10 % v/v y agua desionizada 50 % v/v. Se utilizaron estándares de PM de proteínas en un rango de 7.1 a 103 kDa (Cat. Cat. 161-0374, Bio-Rad®).

4.2.7. Análisis descriptivo del queso Seco Encerado

Se aplicó la metodología de análisis sensorial descriptivo Perfil *Flash* (Dairou & Sieffermann, 2002; Kim et al., 2023). Para realizar la prueba se reclutó a 15 participantes quienes evaluaron cuatro diferentes muestras de queso Seco Encerado (A, B, C y D), con un tiempo de maduración de 30 d, debido a que es el tiempo óptimo para el consumo del queso. Las cuatro muestras (cubos de queso de 1 x 1 x 1.5 cm por muestra) fueron presentadas de forma aleatoria y simultánea en vasos de plástico del No. 0, codificados con números aleatorios de tres dígitos. En la primera sesión los participantes se familiarizaron con las muestras y generaron una lista de atributos, la cual se socializó y se sometió a un consenso grupal para definir a los atributos que diferenciaran a los quesos (Cuadro 3), así mismo, se llevó a cabo la familiarización con la escala de evaluación, la cual fue de tipo ordinal (de 1 a 4, donde el uno se le asignó a la muestra de menor intensidad y cuatro a la muestra con mayor intensidad, de acuerdo con el atributo evaluado). En la segunda sesión se realizó la evaluación final del queso, donde a cada panelista se le presentaron nuevamente las cuatro muestras simultáneamente, aleatorizadas y codificadas y se le pidió

jerarquizarlas para cada atributo utilizando una escala ordinal. Se realizaron descansos de al menos 2 h, entre repeticiones, para evitar la fatiga de los panelistas, como limpiador del paladar se usaron rebanadas manzana y agua, el tiempo total empleado fue de ocho horas. El perfil flash fue ejecutado en el laboratorio de Evaluación Sensorial de la Universidad Autónoma Chapingo, la evaluación final se realizó en cabinas individuales, con iluminación artificial.

Cuadro 3. Descripción de los atributos que fueron identificados por los panelistas mediante la técnica de Perfil Flash.

Atributo	Descripción
Color amarillo	Intensidad del color amarillo observado a la vista.
Porosidad	Poros entre las partículas de queso observados a la vista.
Aroma a fermentado	Aroma a fermentado con intensidad principalmente ácida y típico de los productos lácteos fermentados.
Olor intenso a queso	Olor intenso a queso, coloquialmente denominado “olor a pies”.
Desmoronable al tacto	Textura del queso al tacto, en la cual indica que el producto tiene facilidad para ser desmoronado entre las manos del panelista.
Sabor ácido	Sabor a acidez del producto.
Arenoso en boca	Textura en la boca del producto, esta puede ser relacionada con el tamaño de los gránulos de queso.
Sabor salado	Sabor típico a sal.
Sabor a leche-mantequilla	Sabor a grasa, relacionado con la presencia de leche y mantequilla en el producto.
Dureza (boca)	Resistencia que opone el producto a ser mordido por el panelista.
Masticabilidad	Facilidad que presenta el producto para ser masticado por el panelista.
Sabor residual	Sabor intenso que persiste en la boca después de que se ha consumido el producto.

4.2.8. Análisis estadístico de datos

Los resultados obtenidos de los parámetros: proteína soluble, % GH y actividades enzimáticas (esterasa, lipasa y proteasa), se analizaron mediante un diseño completamente aleatorio con arreglo factorial asimétrico ($A \times B$), donde: A es el factor tiempo con dos niveles (7 y 30 d) y B es el factor tratamiento (queserías) con cuatro niveles. Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA), utilizando un $\alpha = 0.05$, en los casos donde se identificó una diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$) se realizó una comparación de efectos entre las medias de los tratamientos usando el método de Tukey, todos los análisis se llevaron a cabo en el software estadístico R versión 4.4.1. (Team RStudio, 2015).

En el caso del análisis estadístico del Perfil *Flash*, los quesos de cada quesería fueron considerados como muestras, los descriptores generados por cada panelista se analizaron bajo un diseño completamente al azar, para seleccionaron a los atributos por panelista que mostraran diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos. El análisis se realizó con el paquete estadístico SAS versión 9.4 (Institute Inc., Cary, NC, Estados Unidos de América). El Análisis Generalizado Procrusteno (AGP) fue empleado para rotar, trasladar y reescalar los datos obtenidos por los panelistas para los descriptores o atributos empleados (Gower, 1975), se empleó el programa XLSTAT versión 2021 (Lumivero, NY, EUA), para obtener el mapa de perfil *flash* (Kim et al., 2023).

4.3. Resultados y discusión

4.3.1. Determinación de proteína soluble

En la Figura 10, se muestran las concentraciones de proteína soluble en los extractos acuosos de queso Seco Encerado. Los análisis estadísticos indicaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) con respecto a la interacción de queso y tiempo de maduración. La concentración de proteína soluble incrementó en relación con el tiempo de maduración, a los 7 d los extractos que presentaron menor concentración de proteína soluble fueron A (4.23 mg mL^{-1}) y B (8.3 mg mL^{-1}).

¹), mientras que a los 30 d estos mismos extractos presentaron mayor concentración de proteína soluble A (15.96 mg mL⁻¹) y B (17.92 mg mL⁻¹). Este incremento se relaciona principalmente con eventos proteolíticos (Ardö et al., 2017) y ha sido reportado anteriormente por (Ivens et al., 2017) quienes reportaron un incremento de proteína soluble de 9.1 mg mL⁻¹ (15 d) a 10.7 mg mL⁻¹ (30 d), en queso Cheddar; (El-Aidie et al., 2024), identificaron un incremento de nitrógeno soluble de 8 a 17 %, en un periodo de 0 a 30 d, en muestras de queso Edam; por su parte, (Abarquero et al., 2024) determinaron un incremento del 7 al 13 % de nitrógeno soluble en muestras de queso Castellano, en el mismo periodo de tiempo.

El incremento de proteína soluble durante la maduración se debe principalmente a la proteólisis, la cual se produce por la acción de enzimas presentes en el cuajo, proteinasas endógenas de la leche como la plasmina, así como, proteasas y peptidasas sintetizadas por las BAL (Duan et al., 2019). En este proceso, las caseínas experimentan hidrólisis proteica, liberando péptidos de bajo peso molecular, compuestos nitrogenados y aminoácidos libres (Sousa et al., 2001).

Adicionalmente, el aumento de proteínas solubles también puede asociarse al catabolismo de aminoácidos, el cual comprende tres etapas: en la primera, se producen reacciones como descarboxilación, desaminación, transaminación, desulfuración e hidrólisis de las cadenas laterales de los aminoácidos (Shahab Lavasani, 2021); en la segunda etapa los productos de generados (aminas y α -cetoácidos) junto con aminoácidos libres se transforman en aldehídos mediante la acción de desaminasas (Aydin, 2017). Finalmente, en la tercera etapa, los aldehídos se reducen a alcoholes o se oxidan a ácidos carboxílicos (Fox et al., 2017). Estos compuestos y sus derivados contribuyen significativamente al desarrollo del perfil sensorial característico del queso madurado.

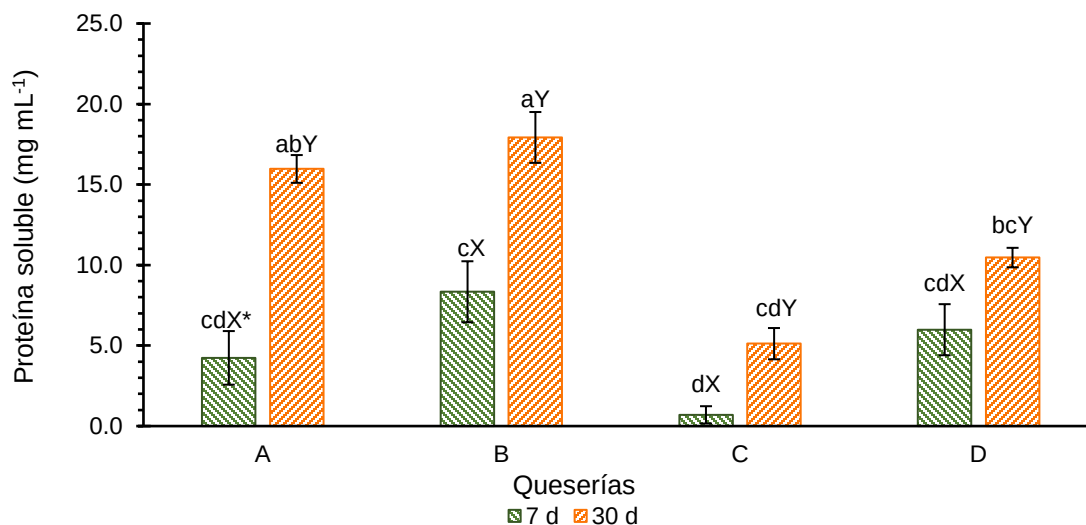


Figura 10. Determinación de proteína soluble en extractos acuosos de queso Seco Encerado.

* Las letras mayúsculas indican diferencia estadística ($p \leq 0.05$) entre tiempos de maduración y las letras minúsculas ($p \leq 0.05$) entre queserías.

4.3.2. Determinación del grado de hidrólisis

En la Figura 11, se muestran los resultados del grado de hidrólisis (% GH), donde se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a la interacción de queso y tiempo de maduración. La quesería B presentó un mayor grado de hidrólisis, con 5.3 % y 7.9 % a los 7 y 30 d, respectivamente. Este comportamiento es comparable al reportado para el queso Añejo de Zacazonapan, cuyo % GH aumentó de 1.68 a 7.73 % durante el mismo periodo de maduración (Torres-Salas et al., 2023). Aunque se evidenció una tendencia al incremento, grados de hidrólisis inferiores al 10 % se consideran bajos (Vioque et al., 2001).

El incremento del % GH se atribuye al proceso de maduración al que se sometió el queso, en el cual ocurre proteólisis primaria y secundaria, influenciada por la concentración de coagulante residual y las enzimas presentes en el queso (El-Aidie et al., 2024). Además, durante la hidrólisis de caseínas se catalizó la producción de péptidos de menor tamaño y aminoácidos libres (Xiang et al., 2024). Estos péptidos pueden exhibir bioactividades específicas

(antimicrobianas, antihipertensivas, inmunomoduladoras, analgésicas y antioxidantes) que pueden aportar beneficios potenciales para la salud humana (Álvarez Ramos et al., 2022).

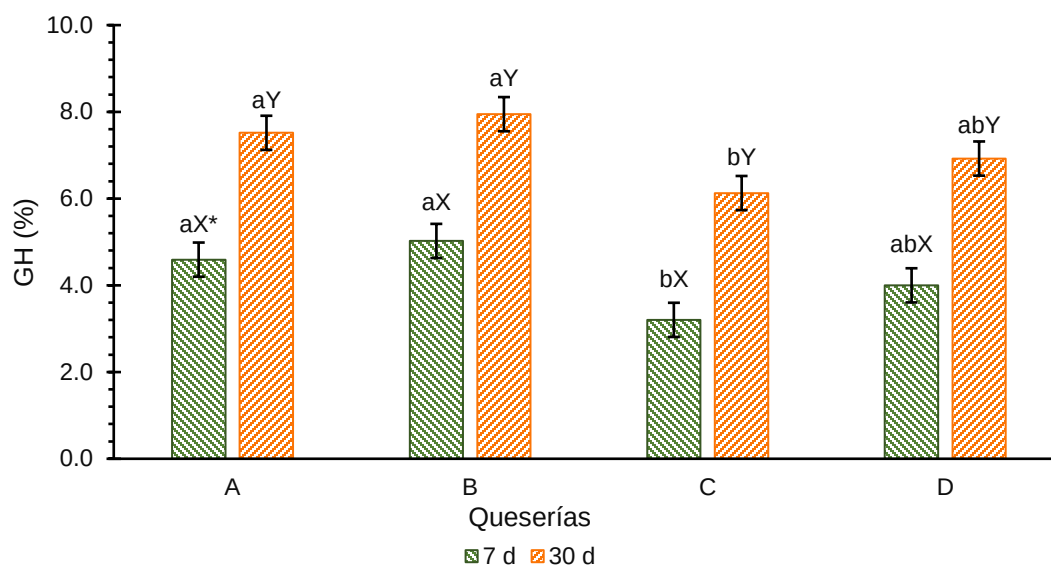


Figura 11. Determinación del grado de hidrólisis (%) en extractos acuosos de queso Seco Encerado.

* Las letras mayúsculas indican diferencia estadística ($p \leq 0.05$) entre tiempos de maduración y las letras minúsculas ($p \leq 0.05$) entre queserías.

4.3.3. Determinación de actividad enzimática

En la Figura 12, se muestran los resultados de la actividad enzimática en el queso Seco Encerado, se identificó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los tiempos de maduración para cada una de las actividades enzimáticas evaluadas. En el caso de la actividad proteasa no se identificaron diferencias entre las queserías evaluadas, sin embargo, a los 7 d las actividades proteolíticas se encontraban en un rango de 0.57–0.67 U L⁻¹, mientras que, a los 30 d éstas incrementaron a un rango 1.98–2.17 U L⁻¹. Existen pocas investigaciones que evalúen la cinética proteolítica en quesos, sin embargo, Ozturkoglu-Budak et al., (2016) realizaron un estudio sobre la proteólisis en queso Divle Cave (un producto tradicional elaborado con leche cruda y madurado en cuevas dentro de bolsas de piel de cabra). En esta investigación, se evaluó la actividad proteolítica de cepas microbianas aisladas, tras ser activadas durante 72 h. Los resultados reportaron

valores de actividad proteolítica en un rango de 6 a 3 U mg⁻¹. De acuerdo con los mismos autores, las altas actividades proteolíticas se atribuyen tanto al aislamiento de las cepas, como al uso de medios enriquecidos durante la activación de los microorganismos.

Esto podría explicar las bajas actividades proteolíticas observadas en los extractos del queso Seco Encerado, ya que se trata de un sistema complejo en el que no se realiza aislamiento de cepas. Además, las condiciones extremas del queso, como el bajo pH (5-6 a los 7 d y 4-5 a los 30 d) y baja Aw (0.830 a los 7 d y 0.772 a los 30 d), pueden reducir la actividad de las enzimas proteolíticas, dado que estas requieren un pH cercano a 7 y, en condiciones de baja Aw, su actividad puede detenerse o ralentizarse (Carneiro et al., 2020).

Por otra parte, el caso de la actividad lipolítica (Figura 12), los extractos acuosos del queso Seco Encerado, se presentaron valores de 0.3–0.55 (7 d) y 0.54–2 (30 d) U L⁻¹, destacando la máxima actividad lipolítica en las queserías C (2 U L⁻¹) y D (1.99 U L⁻¹) a los 30 d. Por su parte, Ozturkoglu-Budak et al., (2016), evaluaron la actividad lipolítica en queso Divle Cave (de cepas microbianas aisladas, tras ser activadas durante 72 h), y reportaron valores entre 1.8 a 0.2 U L⁻¹. A pesar de tratarse de cepas aisladas, el queso Seco Encerado mostró niveles superiores de actividad lipolítica.

En los quesos madurados, las lipasas (lipasas endógenas y exógenas) desempeñan un papel fundamental, debido a que son responsables de la hidrólisis de los triacilglicéridos, produciendo ácidos grasos libres durante la maduración del queso (Yoo et al., 2024). Además, contribuyen significativamente a las características sensoriales del producto, especialmente en el desarrollo del aroma y sabor (Wang et al., 2024).

La actividad esterasa identificada en este estudio (Figura 12), varió de 0.19–0.3 (7 d) a 0.30-5.28 U L⁻¹, destacando principalmente a la Quesería A (30 d), la cual presentó la máxima actividad de enzimas esterases. Este incremento es similar a los resultados reportados por Zeng et al., (2022) en quesos chinos, quienes

identificaron un aumento de 0.8 U (7 d) a 1.2 U (30 d) de actividad durante la maduración. Por otra parte, Ramírez-López & Vélez-Ruiz, (2016) identificaron la presencia de enzimas esterases en queso mexicano de cabra, sin embargo, no determinaron cuantitativamente la cinética de estas enzimas. El incremento de la actividad esterase durante el proceso de maduración repercute en la formación de compuestos que afectan positivamente a las características sensoriales del queso, debido a que éste se encuentra directamente relacionado con la liberación de ácidos grasos durante la lipólisis. Se ha demostrado que el uso de esterases en el proceso de producción de queso, junto con una técnica de preparación de coagulación de la leche que contiene una cierta proporción de enzimas proteolíticas (quimosina/pepsina), afecta positivamente las propiedades sensoriales y acorta el tiempo de maduración de los quesos (Karaca & Güven, 2018).

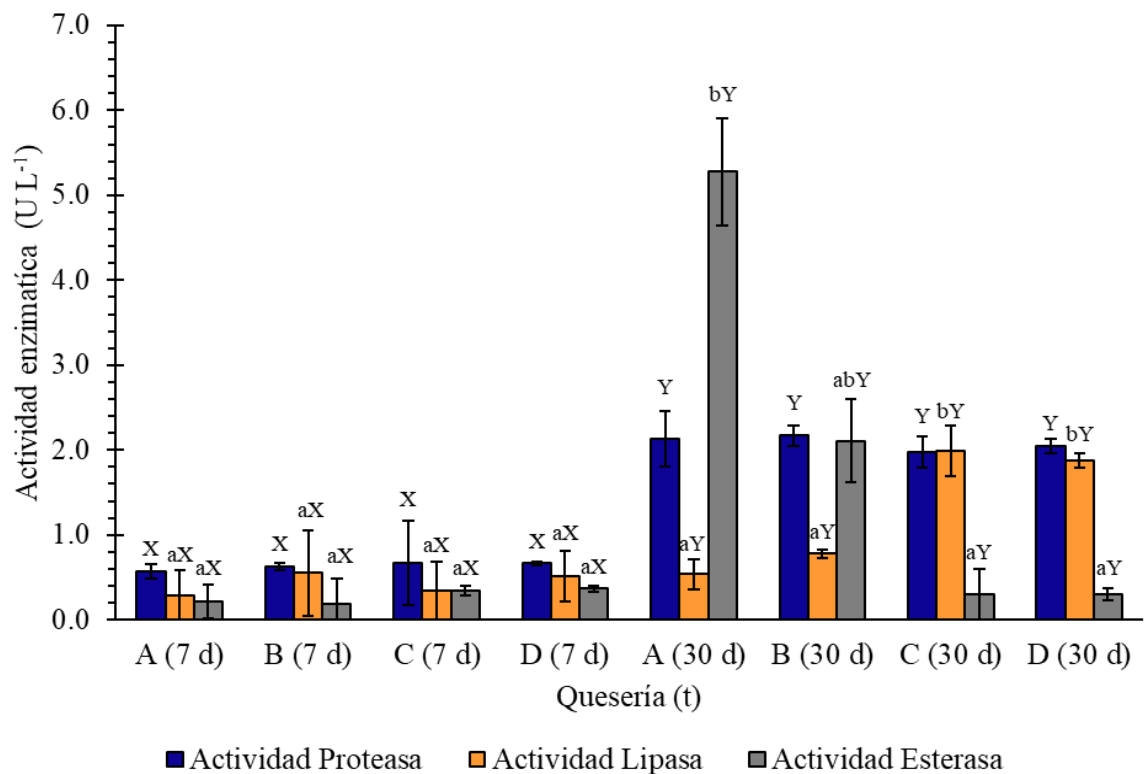


Figura 12. Actividad enzimática (proteasa, lipasa y esterase) en extractos acuosos de queso Seco Encerado.

Nota: Literales en mayúscula (X, Y) indican diferencia entre los tiempos de maduración ($p \leq 0.05$) y letras en minúscula (a y b) indican diferencias entre queserías ($p \leq 0.05$) para cada una de las actividades enzimáticas determinadas; en el caso de la actividad proteolítica no se identificó diferencia entre queserías.

4.3.4. Distribución de pesos moleculares

En la Figura 13 se muestra el gel de electroforesis que presenta la distribución de pesos moleculares de las proteínas presentes en los extractos acuosos. Los productos que presentaron mayor cantidad de bandas son aquellos que tienen un tiempo de maduración de 30 d, tal es el caso de las queserías A, B y C. De acuerdo con Ghosh et al., (Ghosh et al., 2017), las bandas más gruesas son indicativas de mayor concentración de proteína.

Se observaron proteínas de alto peso molecular (> 45 kDa), que podrían corresponder a fracciones de albúmina sérica (68 kDa) (Šarić et al., 2016). Por otra parte, la familia de las caseínas (α -CN, β -CN y κ -CN) son las proteínas más importantes en la leche, se pudieron identificar aproximadamente a los 25 kDa, éstas se hidrolizan en el proceso de maduración de los quesos, produciendo péptidos de bajo peso molecular (Özcan Yardım & Durak, 2023). En el gel también se apreció la presencia de bandas en un rango de 11 a 15 kDa, las cuales pueden ser atribuidas principalmente a la α -lactoalbúmina, cuyo peso molecular es de 14.3 kDa (Ghosh et al., 2017). En las muestras de las queserías B (7d) y C (30 d), no se detectaron bandas correspondientes a proteínas de alto peso molecular; al contrario, se observaron bandas asociadas a fracciones de bajo peso molecular. De acuerdo con (Barac et al., 2019), la presencia de estas fracciones se atribuye a la hidrólisis proteica ocurrida durante la maduración, proceso que transforma proteínas en péptidos de menor tamaño.

La presencia de bandas de bajo peso molecular en la mayoría de las queserías (A2, B1, B2, C1 y C2), es una evidencia que durante la maduración existió mayor actividad proteolítica (Šarić et al., 2016). Esta actividad es atribuida a las enzimas proteolíticas incorporadas mediante el cuajo, las cuales son nativas del sistema gastrointestinal de los rumiantes (pepsina, quimotripsina, renina y enzimas digestivas pancreáticas), dichas enzimas tienen la capacidad de hidrolizar proteínas en fragmentos más pequeños, denominados péptidos, los cuales

pueden presentar bioactividades con potenciales beneficios para la salud humana (Tondhous et al., 2024).

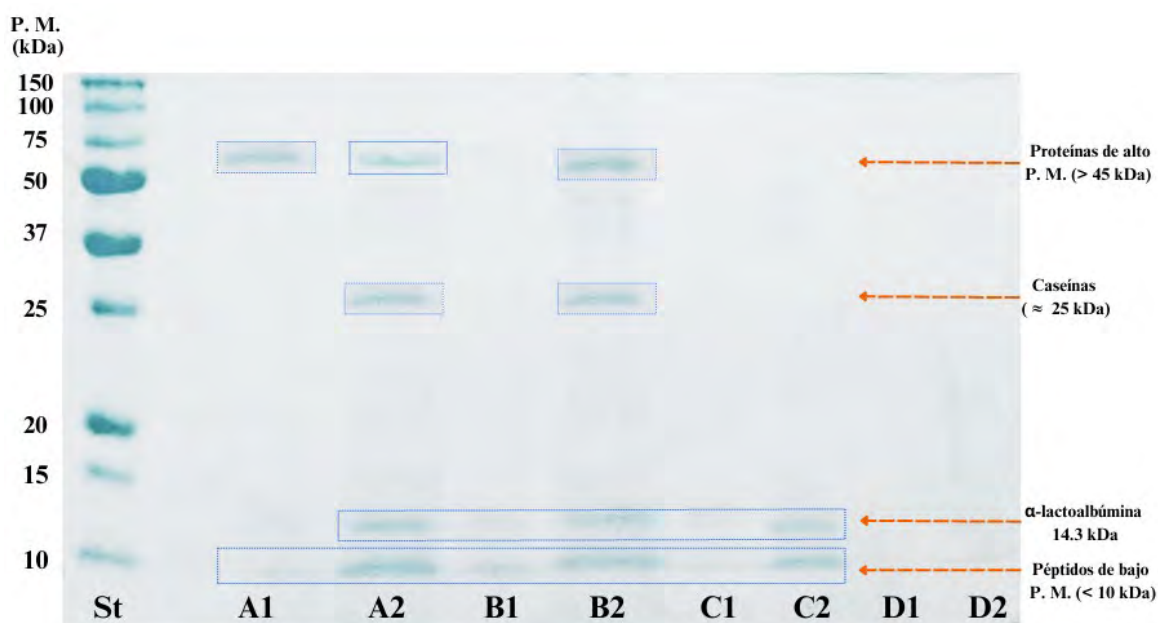


Figura 13. SDS-Page, de las proteínas solubles presentes en los extractos acuosos del queso Seco Encerado durante el periodo de maduración.

Nota: St (estándar de PM de proteínas en un rango de 7.1 a 103 kDa); A1, B1, C1 y D1 (tiempo 7 d); A2, B2, C2 y D2 (tiempo 30 d); PM (peso molecular).

4.3.5. Análisis descriptivo del queso Seco Encerado

En la Figura 14, se presenta el perfil descriptivo del queso Seco Encerado, en el cual muestra una variabilidad acumulada del modelo del 85.9 % ($F1 = 62.65$ y $F2 = 23.25$ %). La quesería C destaca por los atributos sensoriales de sabor salado, desmoronable al tacto y porosidad visual; (Martínez-Aquino et al., 2025) reportaron en esta misma quesería, bajo condiciones similares de maduración y análisis, una concentración de sal del 3.32 % y una actividad de agua (A_w) de 0.772. El elevado contenido de sal influye directamente en la sinéresis de la cuajada, disminuyendo así la A_w (Guinee & Fox, 2017). De acuerdo con Gagnaire et al., (2018), una mayor concentración de sal en los quesos reduce la actividad enzimática y disminuye la firmeza, lo que contribuye al desarrollo de características sensoriales como sabor salado, desmoronabilidad y porosidad en el queso Seco Encerado.

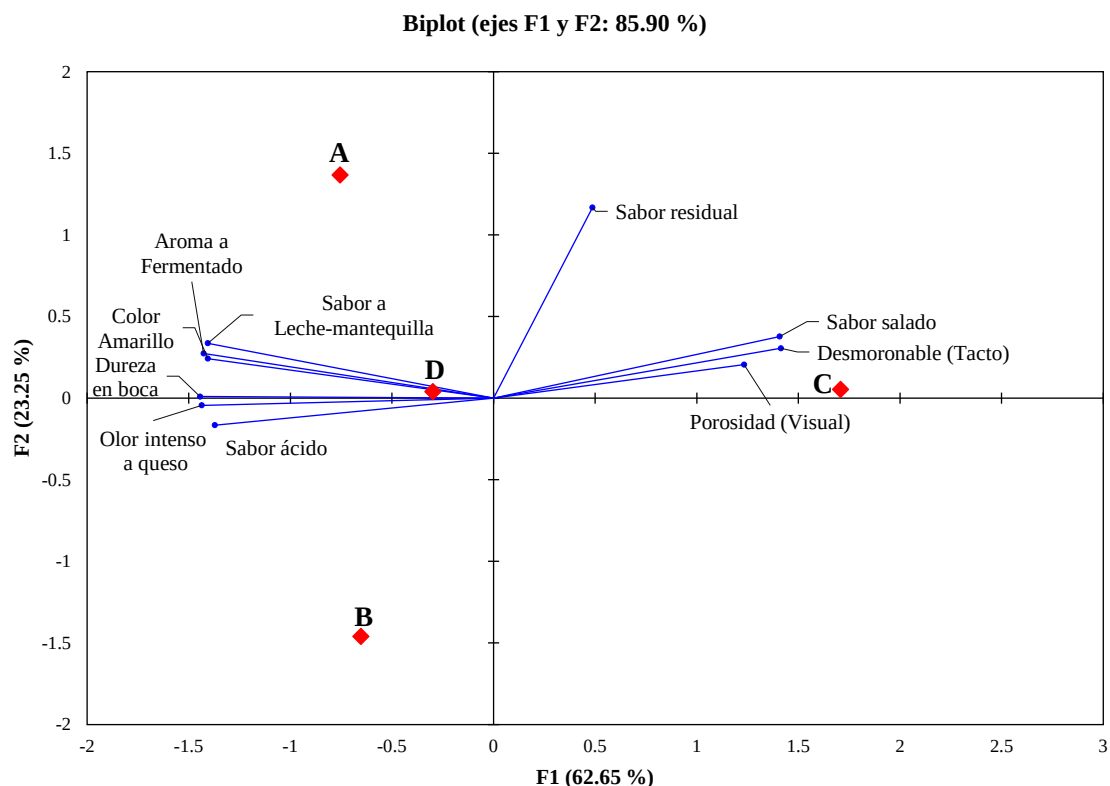


Figura 14. Mapa de dos dimensiones del perfil sensorial rápido del queso Seco Encerado.

Los quesos producidos en las queserías A, B y D, se caracterizaron por los atributos: color amarillo, aroma a fermentado, olor intenso a queso, dureza en boca, sabor a leche/mantequilla y sabor ácido. El color amarillo se asocia directamente con el microbioma nativo y la liberación de ácidos grasos (Gagnaire et al., 2018). Mientras que, los aromas del queso se relacionan con el proceso de lipólisis, éstos son originados principalmente por la liberación de ácidos grasos, tales como ácido n-butanoico, n-pentanoico, n-hexanoico, n-heptanoico, n-octanoico, n-decanoico y n-dodecanoico, como resultado de la acción de enzimas lipolíticas. Entre estas enzimas se incluyen las esterasas, responsables de producir notas afrutadas, y las lipasas, que contribuyen a sabores picantes (Zianni et al., 2023).

Por otro lado, los cambios sensoriales relacionados con la proteólisis se derivan a partir de la producción de aminoácidos libres y otros compuestos, éstos se encuentran relacionados con el desarrollo del sabor (El-Aidie et al., 2024). Como

fue el caso del aroma a ácido propiónico identificado por el panel sensorial, el cual se produce a partir de la presencia de aminoácidos como alanina, ácido aspártico, treonina y valina, los cuales están presentes en los quesos en diferentes concentraciones y contribuyen a diferentes umbrales de percepción sensorial del sabor, dependiendo de las características propias de cada queso (Ganesan & Weimer, 2017).

Finalmente, el sabor ácido y el aroma a fermentado en el queso pueden relacionarse directamente con los procesos de glucólisis y metabolismo de lactato, en los cuales la acción de las BAL genera compuestos como acetaldehído, etanol y acetato, responsables de la disminución del pH (Fox et al., 2017). Asimismo, otras rutas metabólicas contribuyen a la formación de compuestos que intensifican la acidez, entre los que destacan los ácidos 3-metilbutanoico, cáprico, caproico y azelaico, así como cetonas como 2-nonanona y heptan-2-ona (2-nonona y la heptan-2-ona) (Zheng et al., 2024).

4.4. Conclusiones

En este estudio se evaluaron los principales cambios ocurridos durante la maduración del queso Seco Encerado. En la variable proteína soluble, se observó un incremento en función del tiempo de maduración, asociado principalmente con la proteólisis, la cual da como resultado la liberación de péptidos de bajo peso molecular y aminoácidos libres. El grado de hidrólisis incrementó como resultado de la maduración del queso, este fenómeno se relaciona con la hidrólisis de la caseína que da como consecuencia la liberación de grupos amino libres.

Así mismo, se determinó la actividad de enzimas proteasas, lipasas y esterasas, de a través de dos tiempos de maduración, dicho experimento pudo explicar la cinética enzimática durante la maduración del queso. Todas las actividades enzimáticas reportadas presentaron un incremento relacionado con tiempo de maduración evidenciando su papel en los cambios bioquímicos y sensoriales del producto. Por otra parte, el perfil de pesos moleculares (SDS-PAGE), se

corroboró la degradación de las proteínas, principalmente las caseínas a péptidos de bajo peso molecular.

El perfil sensorial obtenido mediante la metodología perfil *flash* explicó el 85.9 % de la variabilidad del modelo. Los quesos de la quesería C se caracterizaron por atributos como sabor salado, textura desmoronable y porosidad visual, mientras que los productos de las queserías A, B y D presentaron color amarillo, aroma fermentado, olor intenso a queso, firmeza en boca, sabor lácteo/mantequilla y notas ácidas. Estos resultados confirman que los procesos metabólicos ocurridos durante la maduración del queso se asocian a la formación de compuestos característicos en queso Seco Encerado.

4.5. Literatura citada

- Abarquero, D., Duque, C., Bodelón, R., López, I., Muñoz, J., María Fresno, J., & Eugenia Tornadijo, M. (2024). Autochthonous cultures to improve the quality of PGI Castellano cheese: Impact on proteolysis, microstructure and texture during ripening. *Food Research International*, 186, 114306. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114306>
- Adler-Nissen, J. (1979). Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 27(6), 1256–1262. <https://doi.org/10.1021/jf60226a042>
- Álvarez Ramos, L., Arrieta Baez, D., Dávila Ortiz, G., Carlos Ruiz Ruiz, J., & Manuel Toledo López, V. (2022). Antioxidant and antihypertensive activity of Gouda cheese at different stages of ripening. *Food Chemistry: X*, 14, 100284. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100284>
- Amina, D., Halima, Z. K., & Nour-Eddine, K. (2020). Lipase and esterase activities of lactic acid bacteria isolated from different biotopes. *African Journal of Biotechnology*, 19(4), 156–164. <https://doi.org/10.5897/AJB2020.17106>
- Ardö, Y. (2021). Enzymes in cheese ripening. In agents of change : *Enzymes in milk and dairy products*, 363–395. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-55482-8_15
- Ardö, Y., McSweeney, P. L. H., Magboul, A. A. A., Upadhyay, V. K., & Fox, P. F. (2017). Biochemistry of cheese ripening: Proteolysis. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (Fourth Edi, Vol. 1, pp. 445–482). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00018-1>
- Aydin, C. M. (2017). Formation of volatile and non-volatile compounds in cheese. *International Journal of Scientific and Technology Research*, 6(9), 252–263.
- Barac, M., Pesic, M., Zilic, S., Smiljanic, M., Ignjatovic, I. S., Vucic, T., Kostic, A., & Milincic, D. (2019). The influence of milk type on the proteolysis and antioxidant capacity of white-brined cheese manufactured from high-heat-treated milk pretreated with chymosin. *Foods*, 8(4), 128. <https://doi.org/10.3390/foods8040128>
- Berno, T., & Fusté-Forné, F. (2020). Imaginaries of cheese: revisiting narratives of local produce in the contemporary world. *Annals of Leisure Research*, 23(5), 608–626. <https://doi.org/10.1080/11745398.2019.1603113>
- Carneiro, J. de O., Chaves, A. C. S. D., Stephan, M. P., Boari, C. A., & Koblitiz, M. G. B. (2020). Artisan minas cheese of Serro: Proteolysis during ripening. *Heliyon*, 6(7), e04446. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04446>
- Dairou, V., & Sieffermann, J. M. (2002). A comparison of 14 jams characterized by conventional profile and a quick original method, the flash profile. *Journal of Food Science*, 67(2), 826–834. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10685.x>

- Duan, C., Li, S., Zhao, Z., Wang, C., Zhao, Y., Yang, G., Niu, C., Gao, L., Liu, X., & Zhao, L. (2019). Proteolytic activity of *Lactobacillus plantarum* strains in cheddar cheese as adjunct cultures. *Journal of Food Protection*, 82(12), 2108–2118. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-19-276>
- El-Aidie, S. A. M., Castro-Muñoz, R., Abu-Jdayil, B., & El-Dieb, S. M. (2024). The role of microbial coagulants on the physicochemical, proteolysis, microstructure and sensory properties of low-fat Edam cheese manufactured from ultrafiltered buffalo milk. *International Dairy Journal*, 157, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2024.105995>
- Fernandez-Lorente, G., Cabrera, Z., Godoy, C., Fernandez-Lafuente, R., Palomo, J. M., & Guisan, J. M. (2008). Interfacially activated lipases against hydrophobic supports: Effect of the support nature on the biocatalytic properties. *Process Biochemistry*, 43(10), 1061–1067. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.05.009>
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. H. (2017). Biochemistry of cheese ripening. In *Fundamentals of Cheese Science* (pp. 391–442). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9_12
- Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H., & O'Mahony, J. A. (2015). *Enzymology of milk and milk products BT - dairy chemistry and biochemistry* (P. F. Fox, T. Uniacke-Lowe, P. L. H. McSweeney, & J. A. O'Mahony, Eds.; pp. 377–414). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14892-2_10
- Gagnaire, V., Spinnler, H.-E., & Thierry, A. (2018). Chapitre 9: Affinage des fromages: Biochimie de l'affinage: les phénomènes enzymatiques et microbiens. In *Le Fromage* (4 ième Edition), 1001 pages. Editions Tec & Doc Lavoisier.
- Ganesan, B., & Weimer, B. C. (2017). Amino acid catabolism and its relationship to cheese flavor outcomes. In *Cheese: Chemistry, physics and microbiology* (Fourth Edi, Vol. 1, pp. 483–516). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00019-3>
- Ghosh, B. C., Prasad, L. N., & Saha, N. P. (2017). Enzymatic hydrolysis of whey and its analysis. *Journal of Food Science and Technology*, 54(6), 1476–1483. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2574-z>
- González-Córdova, A. F., Yescas, C., Ortiz-Estrada, Á. M., De la Rosa-Alcaraz, M. de los Á., Hernández-Mendoza, A., & Vallejo-Cordoba, B. (2016). Invited review: Artisanal Mexican cheeses. *Journal of Dairy Science*, 99(5), 3250–3262. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10103>
- Gower, J. C. (1975). Generalized procrustes analysis. *Psychometrika*, 40(1), 33–51. <https://doi.org/10.1007/BF02291478>
- Guinee, T. P., & Fox, P. F. (2017). Salt in Cheese: Physical, Chemical and Biological Aspects. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*:

Fourth Edition (Vol. 1, pp. 317–375). Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00013-2>

- Hernández-Rodríguez, B., Córdova, J., Bárzana, E., & Favela-Torres, E. (2009). Effects of organic solvents on activity and stability of lipases produced by thermotolerant fungi in solid-state fermentation. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 61(3–4), 136–142. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2009.06.004>
- Hernández-Rodríguez, B. E., Aguirre-Mandujano, E., Prado-Barragán, A., Koh-Kantún, G. I., & Lobato-Calleros, C. (2020). Antioxidant and ACE-inhibitory activities of hydrolysates obtained from lupin and faba bean proteins via enzymatic hydrolysis and fermentation. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 12(2), 99–114. <https://doi.org/10.5154/r.inagbi.2020.02.020>
- Ivens, K. O., Baumert, J. L., Hutkins, R. L., & Taylor, S. L. (2017). Effect of proteolysis during Cheddar cheese aging on the detection of milk protein residues by ELISA. *Journal of Dairy Science*, 100(3), 1629–1639. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11649>
- Kamimura, B. A., Magnani, M., Luciano, W. A., Campagnollo, F. B., Pimentel, T. C., Alvarenga, V. O., Pelegrino, B. O., Cruz, A. G., & Sant’Ana, A. S. (2019). Brazilian artisanal cheeses: An overview of their characteristics, main types and regulatory aspects. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(5), 1636–1657. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12486>
- Karaca, O. B., & Güven, M. (2018). Effects of proteolytic and lipolytic enzyme supplementations on lipolysis and proteolysis characteristics of white cheeses. *Foods*, 7(8), 125. <https://doi.org/10.3390/foods7080125>
- Kendirci, P., Salum, P., Bas, D., & Erbay, Z. (2020). Production of enzyme-modified cheese (EMC) with ripened white cheese flavour: II- effects of lipases. *Food and Bioproducts Processing*, 122, 230–244. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.05.010>
- Kim, D. E., Kwak, H. S., Lim, M., & Lee, Y. (2023). Comparison of check-all-that-apply (CATA), rate-all-that-apply (RATA), flash profile, free listing, and conventional descriptive analysis for the sensory profiling of sweet pumpkin porridge. *Foods*, 12(19). <https://doi.org/10.3390/foods12193556>
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 228, 680–685.
- Li, L., Pei, Y., Cheng, K., Deng, Y., Dong, X., Fang, R., Chu, B., Wei, P., Chen, Q., & Xiao, G. (2023). Production and evaluation of enzyme-modified cheese adding protease or lipase to improve quality properties. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 135(5), 389–394. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2023.02.006>
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265–275.

- Marco, M. L., Sanders, M. E., Gänzle, M., Arrieta, M. C., Cotter, P. D., De Vuyst, L., Hill, C., Holzapfel, W., Lebeer, S., Merenstein, D., Reid, G., Wolfe, B. E., & Hutkins, R. (2021). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on fermented foods. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 18(3), 196–208. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-00390-5>
- Martínez-Aquino, V., Hernández-Montes, A., Hernández-Rodríguez, B. E., & Santos-Moreno, A. (2023). La influencia de los valores humanos en el consumo del queso Seco Encerado del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, y sus significados: el efecto mediador de los atributos tangibles. *Acta Universitaria*, 33(1), 3923. <https://doi.org/http://doi.org/10.15174.au.2023.3923>
- Martínez-Aquino, V., Suárez-Patlán, E. E., Espejel-García, A., Hernández-Montes, A., & Saucedo, A. L. (2025). Evaluation of maturation changes in the handcrafted waxed dry cheese from Southern Mexico using infrared spectroscopy and chemometrics: prospective tools for adding value to local products. *Journal of Dairy Research*, 92(1), 1–10. <https://doi.org/10.1017/S0022029925101325>
- Martínez-Medina, G. A., Barragán, A. P., Ruiz, H. A., Ilyina, A., Martínez Hernández, J. L., Rodríguez-Jasso, R. M., Hoyos-Concha, J. L., & Aguilar-González, C. N. (2019). Fungal proteases and production of bioactive peptides for the food industry. In *Enzymes in Food Biotechnology* (pp. 221–246). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813280-7.00014-1>
- McDonald, C. E., & Chen, L. L. (1965). The Lowry modification of the folin reagent for determination of proteinase activity. *Analytical Biochemistry*, 10(1), 175–177. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(65\)90255-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(65)90255-1)
- Özcan Yardım, D., & Durak, M. Z. (2023). Identification of antihypertensive bioactive peptides in the herby and white cheeses produced from different milk types. *European Food Research and Technology*, 249(9), 2265–2272. <https://doi.org/10.1007/s00217-023-04293-y>
- Ozturkoglu-Budak, S., Wiebenga, A., Bron, P. A., & de Vries, R. P. (2016). Protease and lipase activities of fungal and bacterial strains derived from an artisanal raw ewe's milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 237, 17–27. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.007>
- Pencreac'h, G., & Baratti, J. C. (1996). Hydrolysis of p-nitrophenyl palmitate in n-heptane by the *Pseudomonas cepacia* lipase: A simple test for the determination of lipase activity in organic media. *Enzyme and Microbial Technology*, 18(6), 417–422. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(95\)00120-4](https://doi.org/10.1016/0141-0229(95)00120-4)
- Pritchard, S. R., Phillips, M., & Kailasapathy, K. (2010). Identification of bioactive peptides in commercial Cheddar cheese. *Food Research International*, 43(5), 1545–1548. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.03.007>

- Ramírez-López, C., & Vélez-Ruiz, J. F. (2016). Aislamiento, caracterización y selección de bacterias lácticas autóctonas de leche y queso fresco artesanal de cabra. *Informacion Tecnologica*, 27(6), 115–128. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642016000600012>
- Rani, S., & Jagtap, S. (2019). Acceleration of Swiss cheese ripening by microbial lipase without affecting its quality characteristics. *Journal of Food Science and Technology*, 56(1), 497–506. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3482-6>
- Salazar Carranza, L. A., Hinojoza Guerrero, M. M., Acosta Gaibor, M. P., Escobar Torres, A. F., & Scrich Vázquez, A. J. (2020). Caracterización, clasificación y usos de las enzimas lipasas en la producción industrial. *Revista Cubana de Investigación Biomédicas*, 39(4), 1–16.
- Šarić, L., Šarić, B. M., Mandić, A. I., Hadnađev, M. S., Gubić, J. M., Milovanović, I. L., & Tomić, J. M. (2016). Characterization of extra-hard cheese produced from donkeys' and caprine milk mixture. *Dairy Science and Technology*, 96(2), 227–241. <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0261-2>
- Senoussi, A., Rapisarda, T., Schadt, I., Chenchouni, H., Saoudi, Z., Senoussi, S., Aissaoui Zitoun, O., Zidoune, M. N., & Carpino, S. (2022). Formation and dynamics of aroma compounds during manufacturing-ripening of Bouhezza goat cheese. *International Dairy Journal*, 129, 105349. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105349>
- Shahab Lavasani, A. (2021). Proteolysis characteristics and aroma development during ripening of functional Iranian Lighvan cheese. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(7), 1–10. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15615>
- Sousa, M. J., Ard, Y., & McSweeney, P. L. H. (2001). Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. In *International Dairy Journal* (Vol. 11).
- Sutay Kocabaş, D., Lyne, J., & Ustunol, Z. (2022). Hydrolytic enzymes in the dairy industry: Applications, market and future perspectives. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 467–475. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.013>
- Szűcs, V., Erzsébet, S., Luis, G., Monica, T., & and Bánáti, D. (2019). Modelling of avoidance of food additives: a cross country study. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 70(8), 1020–1032. <https://doi.org/10.1080/09637486.2019.1597837>
- Team RStudio. (2015). *RStudio: Integrated Development for R*.
- Tekin, A., & Güler, Z. (2019). Glycolysis, lipolysis and proteolysis in raw sheep milk Tulum cheese during production and ripening: Effect of ripening materials. *Food Chemistry*, 286, 160–169. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.190>
- Thierry, A., Collins, Y. F., Abeijón Mukdsi, M. C., McSweeney, P. L. H., Wilkinson, M. G., & Spinnler, H. E. (2017). Lipolysis and metabolism of fatty acids in

- cheese. In *Cheese* (pp. 423–444). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00017-X>
- Tondhoush, A., Soltani, M., Azarikia, F., Homayouni-Rad, A., & Karami, M. (2024). Fabrication of UF-white cheese: Obtaining a different proteolysis rate, texture, and flavor via using combinations of mesophilic starter culture and *Lactobacillus helveticus*. *Food Science and Nutrition*, 12(1), 328–339. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3769>
- Torres-Salas, V., Hernández-Montes, A., & Hernández-Rodríguez, B. E. (2023). Análisis sensorial, textural y actividad antioxidante de queso Añejo de Zacazonapan durante la maduración. *Biotechnia*, 25(2), 204–213. <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v25i2.1897>
- Valletta, M., Ragucci, S., Landi, N., Di Maro, A., Pedone, P. V., Russo, R., & Chambery, A. (2021). Mass spectrometry-based protein and peptide profiling for food frauds, traceability and authenticity assessment. *Food Chemistry*, 365. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130456>
- Vioque, J., Clemente, A., Pedroche, J., Del Mar Yust, M., & Millán, F. (2001). Obtención y aplicaciones de hidrolizados protéicos. *Grasas y Aceites*, 52(2), 132–136.
- Wang, H., Sun, Z., Qi, Y., Hu, Y., Ni, Z., & Li, C. (2024). Update application of enzyme in food processing, preservation, and detection. *Food Bioengineering*, 3(3), 380–394. <https://doi.org/10.1002/fbe2.12105>
- Xiang, F., Tang, H., Li, Y. X., & Li, B. (2024). Differences in protein hydrolysis on quality of fermented milk: The changes in structure and processing characteristics. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 98, 103862. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2024.103862>
- Yoo, J., Lee, W., & Lee, W. (2024). Impact of Milk Fat on Cheese Flavor and Novel Technologies for Its Enhancement. *Journal Dairy Science Biotechnology*, 42(4), 113–120.
- Zeng, H., Wang, Y., Han, H., Cao, Y., & Wang, B. (2022). Changes in key aroma compounds and esterase activity of *Monascus*-fermented cheese across a 30-day ripening period. *Foods*, 11(24), 4026. <https://doi.org/10.3390/foods11244026>
- Zheng, A. R., Wei, C. K., Wang, M. S., Ju, N., & Fan, M. (2024). Characterization of the key flavor compounds in cream cheese by GC-MS, GC-IMS, sensory analysis and multivariable statistics. *Current Research in Food Science*, 8, 100772. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2024.100772>
- Zianni, R., Mentana, A., Tomaiuolo, M., Campaniello, M., Iammarino, M., Centonze, D., & Palermo, C. (2023). Volatolomic approach by HS-SPME/GC-MS and chemometric evaluations for the discrimination of X-ray irradiated Mozzarella cheese. *Food Chemistry*, 423, 136239. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136239>

5. CONSUMER PREFERENCES AND ECONOMIC VALUATION OF A TRADITIONAL MEXICAN CHEESE USING DISCRETE CHOICE EXPERIMENTS[¶]

Abstract

The production of traditional foods is strongly linked to the regions of origin where they are produced. These products are part of the culture and are key elements in the gastronomy of the regions, as they have unique sensory and nutritional characteristics derived from the production processes. The objective of this study was to identify the value attributes of a sample of consumers of *Seco Encerado* cheese, using the technique of discrete choice experiments (DCE), and to determine the additional willingness to pay (WTP) for each kilogram of cheese. The most important results were the identification of the significant attributes: price, origin and process, as well as the interactions: price - origin and process - label. The attributes that consumers consider important when choosing a product and for which they are willing to pay a premium price have been identified; two groups of consumers have been created (artisanal cheese enthusiasts and cheese consumers), who are interested in different evaluation attributes, different socio-demographic characteristics and the intrinsic links of the product with the territory. This research explored the valuation and WTP for *Seco Encerado* cheese, identifying a positive tendency on the part of consumers towards this product.

Keywords: Ripening cheese, Mexico, Valuation attributes, Seco Encerado cheese, WTP

[¶]Doctoral thesis in Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo
Author: M. C. Valeria Martínez Aquino
Advisor: Arturo Hernández Montes, Ph.D.
Article published in: Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias. DOI: [10.22319/rmcp.v16i3.6856](https://doi.org/10.22319/rmcp.v16i3.6856)
Authors: Valeria Martínez-Aquino, Arturo Hernández-Montes & Anastacio Espejel-García

5.1. Introduction

Traditional foods are produced from local natural resources using specific processing techniques. This specificity gives unique chemical and sensory characteristics to this type of product, in addition, they have a relationship closely linked to their culture of origin. They are key elements in the elaboration of different local gastronomic dishes that show representations of socio-cultural meanings and provide specific nutrients to the people who include them in their diet⁽¹⁾. The production and consumption of traditional foods have been empirically passed down through generations. They have an impact on the economic development of the region of origin where they are produced, creating jobs and supporting local producers⁽²⁾. The promotion of these foods can therefore contribute to rural development and improve the economies of small-scale producers.

Cheeses stand out internationally as a traditional food group of great importance, they are recognized by consumers for their attributes such as protection of origin, type of process, quality indicators, safety labelling and price⁽³⁾; over time, attempts have been made to identify the main valuation attributes of cheeses, for this purpose different valuation techniques have been used and applied, such as discrete choice experiments, from which it is possible to estimate the willingness to pay (WTP) for different traditional cheeses and their attributes. Previous research has identified consumer behavior towards traditional cheeses, such as Colonna *et al*⁽⁴⁾, who identified preference and purchase of specialty cheeses from the US; Menozzi *et al*⁽⁵⁾, who identified preference for labelled Parmigiano Reggiano and Comté cheeses; Mazzocchi *et al*⁽⁶⁾ assessed consumer attitudes towards sustainably produced mountain cheeses; and Menozzi *et al*⁽⁷⁾ investigated the factors that influence the choice of PDO-labelled cheeses from France and Italy.

Braghieri *et al*⁽³⁾, indicated that there is a relationship between consumer attitudes, valuation and willingness to pay for traditional cheeses; this is influenced by different factors such as: origin, beliefs and attitudes of consumers, as well as

level of education and income. On the other hand, Rodrigues *et al*⁽⁸⁾ defined that food choices are related to different points of perception and the main factor in a purchase choice is influenced by physiological or nutritional needs, however, Köster⁽⁹⁾ indicated that in addition to biological determinants (hunger, appetite and sensory aspects), there are environmental determinants (cultural, social and economic environment) and individual determinants (age, gender, personality and food experience); Therefore, it is important in this research to know what are the factors that influence the food choice of a product such as “Seco Encerado” Cheese.

It is important to note that in Mexico there is an important culture of cheese consumption and production, Villegas de Gante *et al*⁽¹⁰⁾ describe the production of around 40 Mexican artisanal cheeses that are considered traditional due to the set of characteristics acquired from their respective production environments; one of these products is “Seco Encerado” cheese, produced in the region of Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, Mexico⁽¹¹⁾.

This cheese is characterized by the fact that it is artisanal produced with raw milk from zebu cows (*Bos taurus indicus*), as the first phase of the production process reception operations are performed (filtering and manual skimming in some dairies), then proceed to the curdling, which is done with rennet obtained from cattle and carried out at room temperature (30 - 40 °C) for 30 minutes, once the gel is formed, the curd is cut and drained through blanket cloth bags. Once the curds are salted, they are placed in cubic molds (35 x 35 cm) made of Huanacastle wood (*Enterolobium cyclocarpum*), where the cheeses are pressed with river stones (weighing approximately 10 - 20 kg). The cheeses are subjected to two ripening processes under the typical environmental conditions of the Isthmus (high relative humidity and temperature): the first process lasts 7 days and is carried out in Huanacastle molds in order to ensure complete draining and avoid internal fractures in the cheese; The second process lasts about one month, during which the cheeses are removed from the molds and placed on wooden shelves, where every third day the cheese is turned over and the fat released is

spread on the different sides of the cheese, this process is repeated until the 30-day period is over. Once the cheese has matured successfully, it is covered with a layer of wax or paraffin to maintain its shelf life and prevent possible physical or biological contamination. The final piece of “Seco Encerado” cheese weighs approximately 10 kg and is sold by the cheese producer to the local retail distributor, who oversees cutting the cheese into small triangular prisms with a weight of 50 g and a price of around 20 MNX, a common presentation of the product and offered to the final consumer. “Seco Encerado” cheese due to its sensory characteristics of aroma and intense fermented flavor, salty flavor and crumbliness, stands out as an ingredient in various typical dishes of the region such as: breads (*bolilito de queso o quesadilla de arroz*), *garnachas istmeñas*, *tostadas*, *empanadas rellenas de queso*, *pure de papa horneado estilo istmeño*, *garnachas*, *enchiladas*, among others, however, “Seco Encerado” cheese is also a perfect complement for some local foods such as: *totopos istmeños*, *pites* or *corn tamales*, beans or among other dishes⁽¹²⁾.

Despite the importance of traditional Mexican cheeses, there are currently few studies that evaluate consumers' valuation preferences and willingness to pay for them, however, the following consumer-related research on Mexican cheeses was identified: Sensory analysis of “Bola de Ocosingo” Cheese⁽¹³⁾; Perceptions of cheese authenticity^(14,15); Segmentation of cheese consumers according to their lifestyle⁽¹⁶⁾. The objective of this research was to determine consumers' willingness to pay and valuation of “Seco Encerado” cheese through discrete choice experiments using the following valuation attributes: origin, type of process, aging time, label, and price, with the purpose of exploring consumers' perceptions of “Seco Encerado” cheese.

5.2. Methodology

5.2.1. Sample of consumers

A sample ($n \geq 355$) of Mexican consumers of “Seco Encerado” cheese was selected according to Eq. (1) described by Martínez-García & Martínez-Caro⁽¹⁷⁾;

for an infinite population ($N = 99,999$), a coefficient of reliability of 95% ($z = 1.96$), a coefficient of variation of 50% ($V_y = 0.5$) and a margin of error of 5 % ($\varepsilon_{R(\bar{y})} = 0.05$). The criteria for participation in the research were: availability, being a consumer of “Seco Encerado” cheese and being of legal age (≥ 18 years). The questionnaire was applied virtually using Google® Forms. The type of sampling was non-probabilistic, using the snowball technique for the distribution of the questionnaire, in which participants who met the selection criteria were identified, these in turn shared the link to participate to other individuals who met the selection criteria, this process was repeated until the planned sample size was reached.

$$\text{Eq. (1)} \quad n \geq \frac{z^2 N V_y^2}{z^2 V_y^2 + (N-1) \varepsilon_{R(\bar{y})}^2}$$

5.2.3. Discrete choice experiment design (DCE)

The discrete choice experiment involves the construction of an experimental design that aims to evaluate experimental variables that contain two or more levels (attributes) and the effect of the levels of these attributes on the stated preference⁽¹⁸⁾.

5.2.3.1. Attribute and level selection

The attributes were selected according to the criteria that characterize traditional foods according to Guerrero *et al*⁽¹⁹⁾: geographical origin, type of process, product information and price (Table 1).

Cuadro 4. **Table 1.** Selection of attributes for the survey using discrete choice experimental methodology

Research criterion	Attributes	Levels	Description
Geographic origin	Place of origin	Tapanatepec, Oaxaca Zanatepec, Oaxaca	Places associated with the production of “Seco Encerado” cheese.
Process type	Process	Natural (the rumen of the cow is used as a coagulating agent) Not natural (industrial microbial rennet is used as a coagulant)	Rennet extracted from cow rumen, processed by salting and solar drying. A blend of coagulation enzymes marketed under the CUAMEX® brand.
Process type	Ripening time	Fresh Semi-dry Dry	Fresh cheese fit for human consumption from zero to 48 hours. Semi-ripened cheese (7 to 15 days). Cheese ripened for at least 30 days ($T \geq 35^{\circ}\text{C}$ and R. H. $\geq 60\%$).
Product information	Label	With information No information	The label of the cheese must include nutritional and origin information. The cheese label must not contain any nutritional or origin information.
Price	Price per kg of cheese (\$ MXN)	400 300 200	Amount to be paid in Mexican pesos per kilogram of “Seco Encerado” cheese.

5.2.3.2. Selection of combinations

A full factorial design was applied based on the five attributes to be evaluated for “Seco Encerado” cheese and their respective levels (Table 1), from this experimental design 72 different combinations were obtained; implementing a design of this type with too many combinations would imply fatigue and a cognitive challenge for the respondents⁽²⁰⁾, therefore we proceeded to apply a fractional

factorial design with an IV^{1/5} arrangement to obtain 16 combinations of representative attributes, these possible combinations were randomized to form eight selection sets.

5.2.4. Survey design

The survey consisted of three sections: 1) Introduction: respondents were presented with a general description of “Seco Encerado” cheese and its importance, as well as the purpose and implications of the survey; 2) Sociodemographic variables: consumers were asked to provide their sociodemographic data, gender, age, education level, occupation, monthly income and place of residence; 3) Choice experiment: consumers were presented with the 8 choice sets, which consisted of two purchase alternatives and one no-purchase alternative (Table 2).

Cuadro 5. Table 2. Example of purchasing alternatives presented in the survey		
Alternative of choice A	Alternative of choice B	Alternative of choice C
Seco Encerado Cheese  Origin: Tapanatepec, Oaxaca Process: Not natural (industrial microbial rennet is used as a coagulant) Ripening time: Fresh Label: No information (nutritional and origin) Price per kg of cheese (\$ MXN): 200.00	Seco Encerado Cheese  Origin: Zanatepec, Oaxaca Process: Natural (the rumen of the cow is used as a coagulating agent) Ripening time: Dry Label: With information (nutritional and origin) Price per kg of cheese (\$ MXN): 250.00	
Option A	Option B	Option C (I would not buy an option)

5.2.5. Data analysis

5.2.5.1. Discrete choice experiment and willingness to pay for “Seco Encerado” cheese

The data obtained were analyzed using econometric estimation with the mixed logit model (with and without interaction effects), as it has been considered the most appropriate model when dealing with aspects related to attributes⁽²¹⁾. This model considers the diversity of preferences by allowing the parameters to be randomly distributed in the sample population, so that everyone has their own preferences⁽²²⁾. In this study, and to analyze consumer preferences in the consumption of “Seco Encerado” cheese, a mixed logit model was applied, in which the data from the discrete choice experiment were analyzed within a randomized utility framework, in which an individual (i) chooses the alternative that provides the highest utility among (j) alternatives in each choice occasion (t). The utility function takes the following form (Eq. 2):

Eq. 2:
$$U_{ijt} = V_{ijt} + \varepsilon_{ijt}$$

Where: U_{ijt} is the utility obtained by an individual in choosing the alternative; V_{ijt} is the deterministic component and ε_{ijt} is the random component.

For the logit model without interaction, the following variables were used: a) dependent variable: consumers' choice among the three alternatives (option A, option B and the no purchase alternative), which took values of 1 if an alternative was selected and 0 if the two alternatives were not selected; b) independent variables: attributes coded with their respective levels according to the experimental design. On the other hand, for the mixed logit model with interaction, the following variables are used: a) dependent variable: consumer's choice of the three alternatives; b) independent variables: attributes coded with their respective levels according to the experimental design.

Once the model parameters have been estimated, it is possible to calculate the marginal WTP for each attribute considered (the marginal substitution ratio

between the attribute and the price). WTP is calculated using the equation described in⁽²²⁻²⁴⁾ by taking the quotient of the coefficient of the attribute (β_a) and the coefficient of the average price (β_p): $DAP = \frac{\beta_a}{\beta_p} - 1$.

5.2.5.2. Latent class logit model

A latent class logit model (LCLM) model was used to classify consumers into groups according to attribute preferences. This model is mainly applied to discrete variables, from the LCLM it is assumed that a constant vector β within each, identical homogeneous coefficients and heterogeneity between different groups of individuals, β that varies between groups⁽²⁵⁾.

The LCLM model is mainly applied to studies with discrete variables⁽²⁵⁾, from the generation of coefficient estimates it is possible to determine the membership of an individual i , belonging to class s , has a probability of choosing alternative j in the set of options t equal to^(22, 26).

Eq. 3:
$$P_{i/s} = \frac{\exp(\beta'_s x_{ijt})}{\sum_{k=1}^J \beta_s x_{ikt}}$$

Where: s is the number of classes and β is the vector of fixed parameters associated with class.

The LCLM was applied to the consumer variables of the three alternatives (option A, option B and no purchase alternative), obtaining two main classes characterized by the sociodemographic variables of the individuals belonging to each class. To compare the differences between the individuals of the classes, a K-proportions test was applied with X^2 as the test statistic, following the procedure of Marascuilo. Analyses were performed using the XLSTAT statistical analysis software, version 2023.1.1 (Addinsoft®, USA).

5.3. Results and discussion

5.3.1. Sociodemographic characteristics of the sample

In Table 3, the descriptive statistics of the participants' sociodemographic information (n = 355) are presented. In the gender category, 36.62 % of the respondents are male, 61.41 % are female and 1.97 % preferred not to say; in the age category, the largest number of participants fell within the 18 to 35 years range (40 %); the average income of the participants (68.45 %) is less than \$10 000.00 MNX; in the occupation category, the majority of the participants are self-employed (30.14 %); while 72.96 % of the participants are from the South of Mexico. The analyzed sample exhibited a similar demographic distribution to Mexico's general population. In Mexico, 52 % of the population is female and 48 % male, the average age is 29 years, most individuals have a basic level of education, and the average income is \$5,750.00 MXN⁽²⁷⁾. The participation of consumers from southern Mexico is related to the production area of "Seco Encerado" cheese, located in the Istmo of Tehuantepec, Oaxaca, Mexico, a region that mainly includes Oaxaca, Chiapas, Tabasco and Veracruz⁽²⁸⁾.

Cuadro 6. **Table 3.** Descriptive statistics of the main sociodemographic variables reported by in the study (n = 355).

Sociodemographic variables	Categories	Sample (n)	Sample (%)
Gender	Male	130	36.62
	Female	218	61.41
	I prefer not to say	7	1.97
Age	18 - 35	142	40.00
	36 - 45	130	36.62
	> 46	83	23.38
School education	Low level of education	223	62.82

Cuadro 6. **Table 3.** Descriptive statistics of the main sociodemographic variables reported by in the study (n = 355) (Continuation).

Sociodemographic variables	Categories	Sample (n)	Sample (%)
Occupation	University studies	132	37.18
	Self-employed	107	30.14
	Unemployed	13	3.66
	Government employee	81	22.82
	Pensioner	6	1.69
	Private employee	73	20.56
	Student	75	21.13
Income (\$ MXN)	≤ 10 000.00	243	68.45
	10 001.00 A 20 000.00	92	25.92
	> 20 000.00	20	5.63
Residence	North	8	2.25
	West	15	4.23
	Centre	73	20.56
	South	259	72.96

5.3.2. Mixed logit model on the valuation attributes of “Seco Encerado” cheese

Table 4 shows the analysis of variance of the mixed logit model applied to the attributes and their different levels, this model was selected according to the criteria described by^(29,30), who indicate that: i) the coefficients of the variables should have the expected signs, ii) the coefficients of the independent variables should be significant with a certain acceptable level of reliability, iii) the Log likelihood of the model should be large, and iv) the model should have a better fit in terms of the MacFaden R^2 . In this model, the main goodness-of-fit statistics

were: the Log (likelihood) with a value of 8835.14 and the pseudo-R² (McFadden) with a value of 0.210; according to Menozzi *et al*⁽³¹⁾, a Pseudo R² (McFadden) value of 0.2 to 0.4 indicates an excellent model fit, while Valdivia *et al*⁽³⁰⁾ indicated that these values (0.2 to 0.4) are equivalent to an R² of 0.70 to 0.90 in an ordinary least squares model, indicating a good model fit.

Significant attributes ($p \leq 0.05$) identified were: price, origin, process and the of price with origin, process and label, these attributes are considered important in the valuation of the product by the consumer. Menozzi *et al*⁽⁵⁾, indicated that food quality systems, production methods, organic and origin labels are attributes that provide strategic elements to differentiate traditional cheeses from their competitors. Therefore, the valuation that consumers give to the significant attributes of “Seco Encerado” cheese constitutes an essential differentiating element for this product.

Cuadro 7. **Table 4.** Analysis of variance of the logistic regression model used.

Source	DF	Chi- square (Wald)	P > Wald	P > LR
Price	1	3.687	0.055	< 0.0001
Origen	2	136.137	< 0.0001	< 0.0001
Process	1	5.913	0.015	< 0.0001
Price *Origen	1	4.083	0.043	< 0.0001
Price * Process	1	1.734	0.188	< 0.0001
Price *Label	1	39.426	< 0.0001	< 0.0001
Log (Likelihood)	8850.14			
R ² (McFadden)	0.210			

Table 5 shows consumers' preferences for specific attributes and their willingness to pay for each attribute, as well as their significance. In the case of the origin of the cheese, it was significant for both municipalities ($\beta_{\text{Tapanatepec}} = 1.43$; $\beta_{\text{Zanatepec}} = 1.98$). Consumers are willing to pay a price premium of \$11.00 MXN per kg of cheese if it is produced in Tapanatepec, Oaxaca; however, if the cheese is produced in the Zanatepec, Oaxaca, there is a greater willingness to pay an additional \$ 15.60 MXN per kg of cheese. The process attribute ($\beta = 0.70$) is important in the consumer's purchase choice and there is a willingness to pay an extra \$ 4.80 MXN per kilo of cheese if the cheese is produced using an artisanal production process. The interaction price*label with information ($\beta = 0.191$) was found to be positive, consumers are interested and consider it positive that the product has a packaging label that provides information on the main characteristics associated with the product and nutritional information; the consumer is willing to pay an extra \$ 1.60 MXN for a label that provides this information.

In this study, positive WTP in terms of origin, process and labeling, these aspects are closely related to consumers' eating habits, while for the interaction price*Tapanatepec there is a negative WTP, so consumers are not willing to pay a premium for these attributes because they are indifferent to them⁽³²⁾. In addition to various psychological and sociodemographic factors, these habits are also influenced⁽³³⁾. Nowadays, the food market has diversified to satisfy consumer needs⁽³⁴⁾. For this reason, it is necessary to implement strategies that allow traditional foods to satisfy consumers, thus improving territorial development and generating economic benefits for producers⁽³⁵⁾. In the case of “Seco Encerado” cheese, it is essential to promote its origin and introduce informative labels.

Cuadro 8. **Table 5.** Consumer preferences and WTP for “Seco Encerado” cheese.

Attribute	Coefficient β	Standard error	P > Chi ²	WTP (\$ MXN)
Price	0.12	0.06	0.055	
Origen (Tapanatepec)	1.43	0.15	< 0.0001	11.0
Origen (Zanatepec)	1.98	0.28	< 0.0001	15.6
Process (Artisanal)	0.70	0.29	0.015	4.8
Price*Tapanatepec	0.38	0.19	0.043	-3.2
Price* Artisanal	0.24	0.18	0.088	2.1
Price* Label with information	0.19	0.03	< 0.0001	1.6

5.3.3. Valuation attributes and willingness to pay

Table 6 shows the results of the consumer profiles obtained through the logit analysis of the latent classes; two classes of consumers were identified. Cluster 1 ' Artisanal cheese enthusiasts', who value the attributes: Process (artisanal), ripened time (dry), label (with information) and Price* ripened time (dry), and have a positive WTP of \$ 2.79 MXN, \$ 7.32 MXN, \$ 5.26 MXN and \$ 22.02 MNX, respectively, for each kilogram of cheese. For this group of consumers, the value of the artisanal process and the 'dry' ripening process stand out; they prefer the cheese for its indigenous quality characteristics and are willing to pay a premium for these characteristics.

The higher valuation and WTP for attributes related to the process (artisanal) and ripening time are related to consumers knowledge of traditional products, resulting in a higher valuation of local products and conceptualizations that associate artisanal food with higher quality⁽³⁶⁾. Regarding consumers' preference for information labels, Stiletto *et al*⁽³⁷⁾ defined that consumers consider the label as an important part of their buying decision, as it depends on the label whether the food is considered: "healthy", "nutritionally valid" or "frequently consumed". The

use of different food labels can help consumers of “Seco Encerado” cheese to influence their purchase choices, satisfy their motivational needs (ethical, environmental and directly link the product to its origin.

In class 2 'Cheese consumers', who value positively the attributes: ripening time (semi-dry), ripening time (dry) and price*process (artisanal), there is a positive WTP of \$4.71 MNX, \$1.17 MNX and \$1. 1.17 and \$1.74, respectively, for each kilo of cheese, this group of consumers is willing to pay a price premium for the cheese but is not willing to consume the cheese with the artisanal ripening process that it undergoes.

Cuadro 9. **Table 6.** Consumer ranking profiles and WTP (\$ MXN) for different attributes of “Seco Encerado” cheese.

Source	Cluster 1			Cluster 2		
	'Artisanal cheese enthusiasts'			'Cheese consumers'		
	Coefficient β	P> Chi ²	WTP	Coefficient β	P > Chi ²	WTP
Price				-1.45	< 0.0001	
Origen (Tapanatepec)				8.42	< 0.0001	-6.8
Origen (Zanatepec)				2.72	< 0.0001	-2.87
Process (Artisanal)	4.37	0.0153	2.79	6.71	< 0.0001	-5.62
Ripening time (semi-dry)				-8.30	< 0.0001	4.71
Ripening time (dry)	4.83	0.0003	7.32	-3.16	< 0.0001	1.17
Label (with information)	-1.25	0.0018	5.26			
Price*Origen (Zanatepec)				2.70	< 0.0001	-2.9
Price*Process (Artisanal)				-3.98	< 0.0001	1.74
Price* Ripening time (semi-dry)				4.16	< 0.0001	-3.86
Price* Ripening time (dry)	-4.21	< 0.0001	22.0 2			

In the results of the sociodemographic characterization of the classes (Table 7), the main differences found were that the class of 'Artisanal cheese enthusiasts' is composed of a greater number of men. Most of the members of this class have a low level of school education, their source of employment is self-employed (they are usually housewives, farmers, transport workers, etc.) and they are consumers originally from the south of Mexico and can therefore be called native consumers of this cheese.

'Artisanal cheese enthusiasts' are mainly men who express a preference for mature cheeses, and this preference can be derived from the typical sensory characteristics of these cheeses, which are related to intense flavors and aromas⁽³⁸⁾. In addition, men pay more attention to the sensory characteristics of the product, as their preferences are mainly related to hedonic attributes⁽³⁹⁾, while women, who prioritize utilitarian attributes, related to price and nutrition⁽⁴⁰⁾.

The relationship between the origin of the consumer and the origin of the product is strongly linked, a phenomenon known as consumer ethnocentrism, which is mainly observed in regions with a strong local identity and a high demand for local products⁽⁴¹⁾. This group of local consumers exhibits similar behavior to that described by⁽⁴²⁾, where dairy consumers show a higher preference for products of a specific origin, perceiving them as authentic and higher quality. The psychological relationships that consumers associate with cheese and the knowledge of cheese are the main factors that allow this group to show a higher willingness to pay for "Seco Encerado" cheese.

Cuadro 10. **Table 7.** Sociodemographic characterization of consumer groups.

Categories		'Artisanal cheese enthusiasts' (n = 185)	'Cheese consumers' (n = 170)
Gender	Male	73 b *	57 a
	Female	108	110
	I prefer not to say	4	3
Age	18 - 35	70	72
	36 - 45	72	58

Cuadro 10. **Table 7.** Sociodemographic characterization of consumer groups (Continuation).

Categories	'Artisanal cheese enthusiasts' (n = 185)	'Cheese consumers' (n = 170)	Categories
	> 46	43	40
School education	Low level of education	122 b	101 a
	University studies	63	69
Occupation	Self-employed	61 b	46 a
	Unemployed	5	8
	Government employee	41	40
	Pensioner	4	2
	Private employee	39	34
	Student	35	40
Income (\$ MXN)	≤ 10 000.00	133 b	110 a
	10 001.00 A 20 000.00	40	52
	> 20 000.00	12	8
	North	5	3
	West	7	8
Residence	Centre	34	39
	South	139 b	120

* Different letters indicate statistical difference ($p \leq 0.05$) between the categories.

In this research, different consumer associations with the territory of origin of the product have been identified, Zhe *et al*⁽⁴³⁾ define these associations as attachment to place, in this concept influence different characteristics of consumer satisfaction (symbolic differentiation, sense of belonging, continuity, security and sense of belonging that traditional foods have), so it is important to study the associations that consumers have with the territory, paying special attention to its promotion and economic legal protection⁽⁴⁴⁾.

5.4. Conclusions

The attributes that directly influenced the valuation of the cheeses were: price, origin (Tapanatepec and Zanatepec), process (artisanal) and the interaction between price and process (price*artisanal) and process and label (price*label with information), for which consumers are willing to pay a price premium. Based on the above, we can conclude that consumers are looking for a traditional product produced in an artisanal way, they also showed interest in knowing the nutritional information of the product because they prefer a cheese with a label that includes the characteristics of the product to make a correct purchase decision according to their lifestyle.

The latent class analysis identified two classes: "Artisanal cheese enthusiasts", who value the attributes Process (Artisanal), Ripening (Dry), Label (With Information) and Price*Ripening (Dry) and prefer to consume Dry Waxed Cheese with a traditional process, including the ripening to which it is subjected; while the second class "Cheese Consumers" consider the attributes Ripening (Oreado) and Price*Process (Artesanal), this group of consumers is willing to consume any type of cheese, except ripened cheeses

This study presents two main limitations: the first is related to the non-probabilistic sampling method, as it is not usually representative of the entire sample of cheese consumers. The second stems from the DCE, since the stated preference methods used in the experimental design may lead to overestimations or underestimations of the declared WTP values. Despite these limitations, this research contributes to a better understanding of consumer behavior and their WTP for "Seco Encerado" cheese.

Acknowledgements and conflict of interest

The authors thank the Universidad Autónoma Chapingo for funding through the Dirección General de Investigación y Posgrado, through the projects granted to the authors: 24001-DTT-62 (AHM) and 24013-EI (AEG). VMA thanks the

SECIHTI (Mexico) for the scholarship for postgraduate studies (919645) awarded to author VMA. The authors declare that they have no conflict of interest.

5.5. References

1. Kristbergsson K, Oliveira J. Traditional foods general and consumer aspects. traditional foods: General and consumer aspects. New York, USA: Springer; 2016.
2. Singh R, Mir MA, Nazki AA. Evaluation of tourist behavior towards traditional food consumption: validation of extended Theory of Planned Behaviour. *Cogent Soc Sci*. 2024;10(1):1–20.
3. Braghieri A, Girolami A, Riviezzi AM, Piazzolla N, Napolitano F. Liking of traditional cheese and consumer willingness to pay. *Ital J Anim Sci*. 2014;13(1):155–62.
4. Colonna A, Durham C, Meunier-Goddik L. Factors affecting consumers' preferences for and purchasing decisions regarding pasteurized and raw milk specialty cheeses. *J Dairy Sci*. 2011;94(10):5217–26.
5. Menozzi D, Yeh CH, Cozzi E, Arfini F. Consumer preferences for cheese products with quality labels: The Case of Parmigiano Reggiano and Comté. *Animals*. 2022;12(10):1–20.
6. Mazzocchi C, Orsi L, Sali G. Consumers' attitudes for sustainable mountain cheese. *Sustainability*. 2021;13(4):1–17.
7. Menozzi D, Giraud G, Saïdi M, Yeh CH. Choice drivers for quality-labelled food: A cross-cultural comparison on pdo cheese. *Foods*. 2021;10(6):1–17.
8. Rodrigues L, Machado M, Pinheiro C. Cheese: Food perception and food choice. *Recent Pat Food Nutr Agric*. 2018;9(2):104–10.
9. Köster EP. Diversity in the determinants of food choice: A psychological perspective. *Food Qual Prefer*. 2009;20(2):70–82.
10. Villegas de Gante Abraham, Cervantes Escoto Fernando, Cesín Vargas Alfredo, Espinoza Ortega A, Hernández Montes Arturo, Santos Moreno Armando, et al. Atlas de los quesos mexicanos genuinos. 1a ed. Texcoco: bba; 2014. 395 p.
11. Martínez-Aquino V, Hernández-Montes A, Hernández-Rodríguez BE, Santos-Moreno A. La influencia de los valores humanos en el consumo del queso Seco Encerado del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, y sus significados: el efecto mediador de los atributos tangibles. *Acta Univ*. 2023;33(1):3923.
12. Martínez-Aquino V, Hernández-Montes A, Santos-Moreno A, Espejel-García A. Caracterización socio-técnica del queso Seco Encerado de los municipios de Tapanatepec y Zanatepec, Oaxaca [tesis licenciatura]. Texcoco, México: Universidad Autónoma Chapingo; 2018.

13. Agudelo-López M, Cesín-Vargas A, Espinoza-Ortega A, Ramírez-Valverde B. Consumer evaluation and sensory analysis of queso Bola de Ocosingo (Mexico). *Rev Mex Cienc Pecu.* 2019;10(1):104–19.
14. Fernández-Sánchez HY, Espinoza-Ortega A, Sánchez-Vega L, Cervantes-Escoto F, Moctezuma-Pérez S. Perceptions of cheese authenticity: A comparative analysis of value chain actors in Mexico. *Int J Gastron Food Sci.* 2024;38(11).
15. Fernández-Sánchez HY, Espinoza-Ortega A, Sánchez-Vega LP, Moctezuma Pérez S, Cervantes-Escoto F. The perceived authenticity in food among sociological generations: the case of cheeses in Mexico. *British Food Journal.* 2024;126(3):1325–42.
16. Fernández-Sánchez HY, Espinoza-Ortega A, Sánchez-Vega L, Cervantes-Escoto F, Moctezuma Pérez S. Psychographic segmentation and consumer cheese behaviour: cheese-related lifestyle. *British Food Journal.* 2025;127(7):2498–514.
17. Martínez-García JA, Martínez-Caro LM. Determinación de la máxima varianza para el cálculo del factor de imprecisión sobre la escala de medida, y extensión a diferentes tipos de muestreo. *Psicothema.* 2008;20(2):311–6.
18. Mangham LJ, Hanson K, McPake B. How to do (or not to do)... Designing a discrete choice experiment for application in a low-income country. *Health Policy Plan.* 2009 Mar;24(2):151–8.
19. Guerrero L, Guàrdia MD, Xicola J, Verbeke W, Vanhonacker F, Zakowska-Biemans S, et al. Consumer-driven definition of traditional food products and innovation in traditional foods. A qualitative cross-cultural study. *Appetite.* 2009;52(2):345–54.
20. Missaoui S, Rahmani D, Thabet C, Feás J, Gíl JM, Akaichi F. Assessment of social demand for environmental and cultural heritage preservation: evidence from a discrete choice experiment in Tunisia. *Frontiers in Environmental Economics.* 2023 Oct 3;2:1–11.
21. Valdés Castro YR, Valdivia Alcalá R, Pérez Armendáriz B, Mayett Moreno Y. Experimentos de elección: preferencias declaradas de alimentos orgánicos para una política de inocuidad alimentaria. *Agricultura Sociedad y Desarrollo.* 2021;18(1):1–24.
22. Rossi ES, Cacchiarelli L, Severini S, Sorrentino A. Consumers preferences and social sustainability: a discrete choice experiment on 'Quality Agricultural Work' ethical label in the Italian fruit sector. *Agricultural and Food Economics.* 2024;12(1).
23. Amaya-amaya M, Gerard K, Ryan M. Discrete choice experiments in a nutshell. In: Ryan M, Gerard K., M. AA, editors. *Using Discrete Choice Experiments to Value Health and Health Care.* Springer; 2008. p. 13–46.

24. Poelmans E, Rousseau S. Beer and Organic Labels: Do Belgian Consumers Care? *Sustainability*. 2017;9.
25. Shen J. Latent class model or mixed logit model? A comparison by transport mode choice data. *Appl Econ*. 2009;41:2915–24.
26. Yoo H II. Icllogit2: An enhanced command to fit latent class conditional logit models. *Stata J*. 2020;20(2):405–25.
27. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. Población de México [Internet]. 2024 [cited 2024 Apr 26]. Available from: <https://cuentame.inegi.org.mx/poblacion/default.aspx?tema=P>
28. Torres-Fragoso J. El corredor del Istmo de Tehuantepec: de los proyectos fallidos a las nuevas posibilidades para su desarrollo. *Espacios Públicos*. 2017;20(48):127–49.
29. Melo Guerrero E, Rodríguez Laguna R, Martínez Damián MÁ, Hernández Ortiz J, Razo Zárate R. Consideraciones básicas para la aplicación de experimentos de elección discreta: una revisión X1 - Basic considerations for the application of discrete choice experiments: a review. *Rev Mex Cienc For*. 2020;11(59):4–30.
30. Valdivia MSH, Guerrero EM, Alcalá RV, Núñez LMV, Ortiz JH, Damián MÁM. Analysis of the willingness to pay for antibiotic-free pork, a Choice Experiments approach. *Rev Mex Cienc Pecu*. 2023 Jul 1;14(3):658–71.
31. Menozzi D, Yeh CH, Cozzi E, Arfini F. Consumer preferences for cheese products with quality labels: The case of Parmigiano Reggiano and Comté. *Animals*. 2022 May 18;12(10):1299.
32. De-Magistris T, Gracia A. Do consumers care about European food labels? An empirical evaluation using best-worst method. *British Food Journal*. 2017;119(12):2698–711.
33. Wongprawmas R, Mora C, Pellegrini N, Guiné RPF, Carini E, Sogari G, et al. Food choice determinants and perceptions of a healthy diet among Italian consumers. *Foods*. 2021;10(2).
34. Mauracher C, Procidano I, Valentini M. How product attributes and consumer characteristics influence the WTP, resulting in a higher price premium for organic wine. *Sustainability*. 2019;11(5).
35. Ruggeri G, Mazzocchi C, Corsi S. Drinking biodiversity: a choice experiment on Franciacorta sparkling wines. *British Food Journal*. 2020;122(8):2531–49.
36. Fan X, Gómez MI, Coles PS. willingness to pay, quality perception, and local foods: The case of Broccoli. *Agric Resour Econ Rev*. 2019;48(3):414–32.
37. Stiletto A, Vecchio R, Cembalo L, Trestini S. The impact of nutri-score on consumers' preferences for geographical indications. Evidence from a non-hypothetical experiment. *Appetite*. 2024;199:107400.

38. Jo Y, Benoist DM, Ameerally A, Drake MA. Sensory and chemical properties of Gouda cheese. *J Dairy Sci.* 2018;101(3):1967–89.
39. Sánchez-Vega LP, Espinoza-Ortega A, Thomé-Ortiz H, Moctezuma-Pérez S. Perception of traditional foods in societies in transition: The maize tortilla in Mexico. *J Sens Stud.* 2021;36(2).
40. Sgroi F, Moscato CM, Moscato R. Consumer preferences for the Mediterranean Diet: Results of an empirical analysis. *J Agric Food Res.* 2022;10(August):100371.
41. Nacef M, Lelièvre-Desmas M, Symoneaux R, Jombart L, Flahaut C, Chollet S. Consumers' expectation and liking for cheese: Can familiarity effects resulting from regional differences be highlighted within a country? *Food Qual Prefer.* 2019;72:188–97.
42. Li S, Lopez RA, Zhu C, Liu Y. Consumer preferences for sustainably produced ultra-high-temperature milk in China. *J Dairy Sci.* 2023;106(4):2338–46.
43. Zhe L, Jie W, Yuan H. The effect of place attachment of geographical indication agricultural products on repurchase intention. *Journal of Retailing and Consumer Services.* 2023;72:1–13.
44. Silvestri C, Aquilani B, Piccarozzi M, Ruggieri A. Consumer Quality Perception in Traditional Food: Parmigiano Reggiano Cheese. *Journal of International Food and Agribusiness Marketing.* 2020;32(2):141–67.

6. CONCLUSIONES GENERALES

Se evaluaron los cambios en el queso Seco Encerado durante el periodo de maduración (7 y 30 d), a través de técnicas bioquímicas y técnicas espectroscópicas combinadas con análisis quimiométrico, así mismo, se determinaron los atributos intangibles y sensoriales que influyen en la preferencia del producto por parte de los consumidores. En el caso de la Caracterización espectroscópica y química, se aplicaron las técnicas de FT-NIR y FT-IR-ATR, las cuales permitieron establecer el perfil químico del queso Seco Encerado, evidenciando cambios en bandas relacionadas con el agua, las proteínas, los lípidos y carbohidratos, éstos se relacionaron con los procesos de maduración. Estas técnicas, combinadas con análisis quimiométrico, demostraron ser herramientas robustas para monitorear procesos de maduración y garantizar autenticidad, ofreciendo alternativas rápidas, económicas y sostenibles frente a métodos convencionales.

En el caso de las variables proteína soluble y grado de hidrólisis, se observó un incremento relacionado con el tiempo de maduración, este fenómeno se asocia principalmente con la proteólisis, proceso en el cual se lleva a cabo la hidrólisis de la caseína dando como resultado la liberación de péptidos de bajo peso molecular y aminoácidos libres. Por otra parte, el perfil de pesos moleculares (SDS-PAGE), se corroboró la degradación de las proteínas, principalmente las caseínas a péptidos de bajo peso molecular. En el caso de la dinámica enzimática se realizaron las actividades proteasa, lipasa y esterasa, las cuales se incrementaron con el tiempo de maduración, confirmando su papel en la producción de compuestos responsables del aroma, sabor y textura característicos. El perfil sensorial mostró diferencias

entre queserías, reflejando la influencia de prácticas artesanales y condiciones locales en la identidad del producto.

Por otra parte, se identificaron las preferencias del consumidor y valorización económica, en las cuales los consumidores manifestaron preferencia por quesos artesanales, con maduración prolongada, como es el caso del queso Seco Encerado y etiquetado informativo que incluya explícitamente las características nutricionales y de origen. La disposición a pagar por atributos de origen y proceso artesanal confirma oportunidades para estrategias de diferenciación, certificación y comercialización que fortalezcan la competitividad del producto.