



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
POSGRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
AGROALIMENTARIA**

DETERMINACIÓN DE PÉPTIDOS Y BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS EN QUESO BOLA DE OCOSINGO, CHIAPAS COMO ESTRATEGIA DE POSICIONAMIENTO COMERCIAL

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

Presenta:

MELBYS LÓPEZ LÓPEZ

Bajo la supervisión de:

DR. ANASTACIO ESPEJEL GARCÍA



**DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PROFESIONALES**



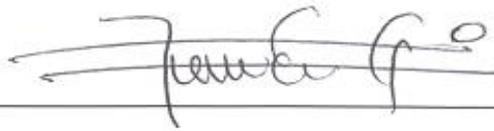
Chapingo, Estado de México, octubre de 2018

**DETERMINACIÓN DE PÉPTIDOS Y BACTERIAS ÁCIDO
LÁCTICAS EN QUESO BOLA DE OCOSINGO, CHIAPAS COMO
ESTRATEGIA DE POSICIONAMIENTO COMERCIAL**

Tesis realizada por MELBYS LÓPEZ LÓPEZ bajo la supervisión del comité asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

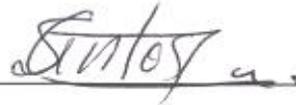
MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGOALIMENTARIA

DIRECTOR: _____



DR. ANASTACIO ESPEJEL GARCÍA

ASESOR: _____



M.C. ARMANDO SANTOS MORENO

ASESORA: _____



DRA. MA. CARMEN YBARRA MONCADA

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
DEDICATORIA	xii
AGRADECIMIENTOS	xiii
DATOS BIOGRÁFICOS	xv
RESUMEN GENERAL	xvi
GENERAL ABSTRACT	xvii
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Marco teórico.....	4
2.1.1. Alimentos tradicionales	4
2.1.2. Quesos tradicionales mexicanos	5
2.1.3. Queso Bola de Ocosingo Chiapas.....	6
2.1.4. Bacterias ácido lácticas (BAL).....	7
2.1.5. Péptidos bioactivos	11
2.1.6. Innovación en productos tradicionales.....	17
2.1.7. Análisis de consumidores.....	21
2.1.8. Valoración de los alimentos tradicionales.....	23
2.2. Marco de referencia.....	24
2.2.1. Región de estudio	24
2.2.2. Producción de leche en Chiapas	25
2.3. Literatura citada	28
3. DETERMINACIÓN DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS EN QUESO BOLA DE OCOSINGO, CHIAPAS	32

RESUMEN	32
ABSTRACT	33
3.1. Introducción	34
3.2. Materiales y métodos.....	37
3.2.1. Objeto de estudio	37
3.2.2. Preparación de muestra	37
3.2.3. Determinación de bacterias ácido lácticas (BAL).....	37
3.2.4. Análisis químico proximal y minerales	38
3.2.5. Análisis estadístico.....	38
3.3. Resultados y discusión	40
3.3.1. Caracterización del proceso de elaboración del Queso Bola de Ocosingo	40
3.3.2. Bacterias ácido lácticas del Queso Bola.....	42
3.3.3. Análisis proximal y minerales del Queso Bola	48
3.3.4. pH	52
3.4. Conclusiones	54
3.5. Agradecimientos	55
3.6. Literatura citada	56
4. DETERMINACIÓN DE PÉPTIDOS EN QUESO BOLA DE OCOSINGO, CHIAPAS	59
RESUMEN.....	59
ABSTRACT	60
4.1. Introducción	61
4.2. Materiales y métodos.....	63
4.2.1. Objeto de estudio	63
4.2.2. Preparación de las muestras	63
4.2.3. Obtención del extracto soluble en agua.....	63
4.2.4. Determinación de proteína total soluble por el método de Biuret...64	
4.2.5. Determinación del grado de hidrólisis por el método Ácido Trinitrobencensulfónico (TNBS).....	64
4.2.6. Cromatografía de exclusión molecular	66

4.2.7. Determinación de la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ECA).....	67
4.2.8. Diseño experimental.....	69
4.3. Resultados.....	70
4.3.1. Determinación de proteína total soluble (Biuret).....	70
4.3.2. Determinación del grado de hidrólisis (TNBS).....	72
4.3.3. Cromatografía de exclusión molecular	74
4.3.4. Determinación de la inhibición de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA)	78
4.4. Conclusión.....	81
4.5. Agradecimientos	81
4.6. Literatura citada	82
5. CARACTERIZACIÓN DE LA AGROINDUSTRIA Y CONSUMIDORES DEL QUESO BOLA DE OCOSINGO, CHIAPAS	84
RESUMEN.....	84
ABSTRACT.....	85
5.1. Introducción	86
5.2. Metodología.....	89
5.2.1. Caracterización de la agroindustria (AI).....	89
5.2.2. Caracterización del consumidor de Queso Bola	90
5.3. Resultados y discusión	91
5.3.1. Caracterización de la agroindustria	91
5.3.2. Caracterización del consumidor actual y potencial del Queso Bola	
99	
5.4. Conclusiones	104
5.5. Agradecimientos	105
5.6. Literatura citada	106
CONCLUSIONES GENERALES.....	108

LISTA DE CUADROS

REVISIÓN DE LITERATURA

Cuadro 2.1.1. Ejemplos de péptidos bioactivos derivados de proteínas lácteas (quesos).	15
Cuadro 2.1.2. Resumen de innovaciones en las cadenas alimentarias tradicionales.	20
Cuadro 2.2.1. Producción anual de leche en el Municipio de Ocosingo, Chiapas.	25
Cuadro 2.2.2. Producción de leche en Ocosingo, Chiapas.	26

DETERMINACIÓN DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS EN QUESO BOLA DE OCOSINGO, CHIAPAS.

Cuadro 3.3.1. Características de bacterias ácido lácticas durante el tiempo de maduración en el Queso Bola de tres queserías de Ocosingo, Chiapas.....	48
Cuadro 3.3.2. Composición (% base humedad) de las tres marcas del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas a distintos tiempos de maduración (T1: 5 días, T2: 21 días y 40 días).....	49
Cuadro 3.3.3. Composición (% base seca) de las tres marcas del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas a distintos tiempos de maduración (T1: 5 días, T2: 21 días y 40 días).	50

DETERMINACIÓN DE PÉPTIDOS EN QUESO BOLA DE OCOSINGO, CHIAPAS.

Cuadro 4.3.1. Comparación de posibles péptidos potencialmente bioactivos durante la maduración de los Quesos Bola	78
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

CARACTERIZACIÓN DE LA AGROINDUSTRIA Y ASPECTOS DE VALORIZACIÓN EN CONSUMIDORES DE QUESO BOLA DE OCOSINGO, CHIAPAS

Cuadro 5.3.1. Cargas factoriales de los componentes.	98
-----------------------------------------------------------	----

Cuadro 5.3.2. Clasificación por estratos de acuerdo al nivel de ingresos mensual y escolaridad de los consumidores.100

LISTA DE FIGURAS

REVISIÓN DE LITERATURA

Figura 2.1.1. Metabolismo de las bacterias ácido lácticas homofermentativas. ..8	8
Figura 2.1.2. Metabolismo de las bacterias ácido lácticas heterofermentativas. 10	10
Figura 2.1.3. Propiedades funcionales de las BAL en los alimentos.11	11
Figura 2.1.4. Esquema de posibles diferencias entre péptidos liberados de proteínas precursoras por fermentación y / o digestión gastrointestinal.12	12
Figura 2.1.5. Principales funciones de los péptidos bioactivos de las proteínas lácteas.....13	13
Figura 2.1.6. Reacciones catalizadas por la ECA (Enzima Convertidora de Angiotensina).....14	14
Figura 2.2.1. Localización de Ocosingo, Chiapas.25	25
Figura 2.2.2. Participación en la producción de quesos tipo en México.27	27

DETERMINACIÓN DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS EN QUESO BOLA DE OCOSINGO, CHIAPAS EN QUESO BOLA DE OCOSINGO, CHIAPAS

Figura 3.3.1. Crecimiento de las BAL en Queso Bola de Ocosingo, Chiapas durante el proceso de maduración (T1: 5 días, T2: 21 días y T3: 40 días).....45	45
Figura 3.3.2. Bacterias ácido lácticas en el Queso Bola, a los 40 días de maduración (T3).46	46
Figura 3.3.3. pH del Queso Bola de Ocosingo Chiapas, de las queserías El Dorado, Queshil y Laltic durante el proceso de maduración (T1:5 días, T2:21 días y T3:40 días).....53	53
Figura 3.3.4. pH en el Queso Bola de Ocosingo, Chiapas de las queserías El Dorado, Queshil y Laltic a los 40 días de maduración (T3).54	54

DETERMINACIÓN DE PÉPTIDOS EN QUESO BOLA DE OCOSINGO, CHIAPAS

Figura 4.2.1. Reacción del ácido trinitrobencensulfónico con los grupos amino primarios.....	65
Figura 4.2.2. Hidrólisis del sustrato hipuril-L-histidil-L-leucina por la enzima converditora de angitensina I (ECA) a ácido hipúrico y L-histidil-L-leucina.	68
Figura 4.3.1. Formación del complejo Cu ²⁺ en medio alcalino con los enlaces peptídicos.	71
Figura 4.3.2. Evolución de la concentración de proteína soluble en el tiempo de maduración (T1: 5días, T2: 21 días y T3: 40 días) de los Quesos Bola de las queserías El Dorado, Queshil y Laltic.	72
Figura 4.3.3. Grado de hidrólisis (%) durante los tiempos de maduración de los Quesos Bola de las queserías El Dorado, Queshil y Laltic.....	73
Figura 4.3.4. Grado de hidrólisis (%) del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas en el T3 (40 días de maduración) en las queserías El Dorado, Queshil y Laltic.	73
Figura 4.3.5. Perfil cromatográfico de exclusión molecular (Columna (BioSep-Sec-S 2000) de las fracciones obtenidas en los extractos solubles de quesos Bola en el T1 (5 días de maduración) y T3 (40 días de maduración) a una longitud de onda de 280 nm. Fracción I: I, Fracción II: II, Fracción III: III, Fracción IV: IV, Fracción V: V y Fracción VI: VI.	75
Figura 4.3.6. Concentraciones y peso molecular (entre paréntesis) de las fracciones obtenidas de los sobrenadantes de queso en tres tiempos de maduración, para los quesos: (A) El Dorado, (B) Queshil y (C) Laltic.	76
Figura 4.3.7. Fracciones de Péptidos de los 40 días de maduración (T3) en queso El Dorado, Queshil y Laltic.....	77
Figura 4.3.8. Inhibición (%) de la ECA durante los tiempos de maduración de los Quesos Bola de Ocosingo, Chiapas provenientes de las queserías El Dorado, Queshil y Laltic.	79
Figura 4.3.9. Inhibición (%) de la ECA a los 40 días de maduración (T3) del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas provenientes de las queserías El Dorado, Queshil y Laltic.	80

CARACTERIZACIÓN DE LA AGROINDUSTRIA Y ASPECTOS DE VALORIZACIÓN EN CONSUMIDORES DE QUESO BOLA DE OCOSINGO, CHIAPAS

Figura 5.3.1. Categorías para adopción de innovaciones en la agroindustria del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas.	93
Figura 5.3.2. Velocidad de innovación de la AI del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas.	95
Figura 5.3.3. Análisis económico de las queserías del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas.	96
Figura 5.3.4. Variables de adopción e innovación en seis queserías en Ocosingo, Chiapas.	97
Figura 5.3.5. Variables que influyen para la disposición a pagar por el Queso Bola.	101
Figura 5.3.6. Variables que influyen en la decisión de compra en los consumidores.	102

LISTA DE ABREVIATURAS

QTM	Queso tradicional mexicano
BAL	Bacterias ácido lácticas
ECA	Enzima Convertidora de Angiotensina
INAI	Índice de adopción de innovación
MC	Marca colectiva
PM	Peso molecular
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta eficiencia
TFP	Alimentos tradicionales
CEM	Cromatografía de exclusión molecular
PYME	Pequeñas y medianas empresas
AI	Agroindustria
QBO	Queso Bola de Ocosingo, Chiapas

DEDICATORIA

A mis padres y hermanos por el apoyo incondicional en cada una de mis decisiones y ser el pilar para seguir creciendo profesionalmente.

Arturo por ser mi compañero, confidente y amigo, durante toda esta etapa de crecimiento. Gracias corazón.

A la Sra. Gina y el Sr. Arturo por cobijarme, apoyarme y por todo el apoyo que he recibido de su parte para la realización de la maestría.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento otorgado para la realización de mis estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma Chapingo y Departamento de Ingeniería Agroindustrial por las facilidades brindadas para la realización de esta investigación.

A la empresa GISENALabs por el apoyo recibido para la realización de mi fase experimental de ésta investigación.

A los productores del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas, por el apoyo recibido para esta investigación, principalmente a las queserías del Queso Bola: EL Dorado, Laltic y Qeshil.

Al Dr. Anastacio Espejel García por todo el apoyo y comprensión durante mi estancia en el posgrado y aportaciones para la realización de esta investigación.

Al M.C. Armando Santos Moreno por las asesorías y facilidades para la obtención de materiales, equipos y el laboratorio para la fase experimental de la investigación.

A la Dra. Ma Carmen Ybarra por su atención, apoyo y asesorías durante mi estancia en el posgrado.

A la Dra. Blanca por la orientación, paciencia y apoyo para la realización de este trabajo.

Al Q.F.B. Adalberto Gómez Cruz por su apoyo para el acceso del laboratorio de Usos Múltiples.

A Doña Lupita, la Lic. Charito y el Sr. Carlitos por su invaluable apoyo durante mi estancia en Ocosingo, Chiapas y constante apoyo para concluir esta investigación.

A la Lic. Nora Penagos por su apoyo y compartir sus conocimiento sobre el Queso Bola.

A la I.B.T. Carolina Buenrostro y Don Jorge por el apoyo incondicional durante mi estancia en el área de Inocuidad Agroalimentaria (GISENALabs).

Al I.B.I. Gaudencio, I.B.T. Reyna, I.B.T. Sara y él Q.F.B. Giovanni por el apoyo y asesorías durante mi estancia en el área de RTC-Cromatografía (GISENALabs).

A mis compañeras de la XV generación de la MCyTA (Caro, Pris, Angy, Adris) por los momentos gratos, de aprendizaje y de comprensión.

A la M.C. Verenice por todo su apoyo, comprensión y por ser mi guía para la realización de esta investigación.

DATOS BIOGRÁFICOS

Mlebys López López nació en el municipio La Independencia Chiapas, México el 20 de septiembre de 1989. Estudió la licenciatura en Ingeniería Agroindustrial en la Universidad Autónoma Chapingo (2007-2011). Posteriormente en año 2012, ejerció durante catorce meses para el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) como auxiliar técnico operativo en verificación e inspección fitozoosanitario en el aeropuerto internacional de la Ciudad de México. Durante el 2014-2016 trabajó en el laboratorio GISENALabs en el área de inocuidad Agroalimentaria, como analista de métodos microbiológicos acreditada ante la Entidad Mexicana de Acreditación (Signatario).

RESUMEN GENERAL

DETERMINACIÓN DE PÉPTIDOS Y BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS EN QUESO BOLA DE OCOSINGO, CHIAPAS COMO ESTRATEGIA DE POSICIONAMIENTO COMERCIAL *

La tendencia actual en el consumo de alimentos va más allá de cumplir necesidades nutricionales, recientemente un grupo de alimentos, denominados tradicionales, artesanales y típicos, están siendo valorados por propiedades relacionadas con la funcionalidad de algunos compuestos que promuevan beneficios en la salud y que además son genuinos y sin aditivos. Dentro de estos compuestos, los péptidos han demostrado poseer varias propiedades bioactivas: antihipertensiva, antimicrobiana, inmunomoduladora, antioxidantes, etc. Con fines de demostrar el perfil saludable del queso Bola de Ocosingo, Chiapas (QBO), en esta investigación se evaluaron a diferentes tiempos de maduración (T1: 5, T2: 21 y T3: 40 días): la cuenta total de las bacterias ácido lácticas (BAL) en Placas Petrifilm™ BAL, la caracterización molecular y concentración de péptidos mediante el HPLC y una columna de exclusión molecular y la actividad antihipertensiva en el QBO, se determinó considerando la concentración de ácido hipúrico generada durante la reacción de la Enzima convertidora de Angiotensina (ECA) con el sustrato de Hipuril-L-Histidil-Leucina mediante el HPLC con una columna de fase reversa. Para la caracterización de la Agroindustria (AI) y valorización de los consumidores: se evaluaron 6 AI y se encuestaron 100 consumidores del QBO. Los resultados sugieren que a mayor tiempo de maduración de los quesos la cuenta total de las BAL disminuye, caso contrario con la concentración de péptidos que incrementaron la FV y FVI de bajo peso molecular y la actividad antihipertensiva fue mayor al T3 existiendo diferencia significativa ($p \leq 0.05$). Los péptidos se encontraron en intervalo de 26.625- 1.423 kDa. La mayoría de las AI tienen índice de adopción aceptable; pero en las ganancias se ve reflejado si les ha sido favorable. Los consumidores del estrato 3 son los de mejor disposición a pagar por el QBO, con características de mayor ingreso económico y nivel de escolaridad de posgrado.

Palabras clave: péptidos bioactivos, actividad antihipertensiva, tradicional, innovación

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

Autor: Ing. Melbys López López

Director de Tesis: Dr. Anastacio Espejel García

GENERAL ABSTRACT

DETERMINATION OF PEPTIDE AND LACTIC ACID BACTERIA IN BOLA CHEESE OCOSINGO, CHIAPAS AS A COMMERCIAL, POSITIONING STRATEGY*

The current trend in food consumption goes beyond meeting nutritional needs, recently a group of foods, called traditional, artisanal and typical, are being valued for properties related to the functionality of some compounds that promote health benefits and they are also genuine and without additives. Within these compounds, the peptides have been shown to possess several bioactive properties: antihypertensive, antimicrobial, immunomodulatory, antioxidants, etc. In order to demonstrate the healthy profile of the Bola cheese from Ocosingo, Chiapas (QBO), this research was evaluated at different ripening times (T1: 5, T2: 21 and T3: 40 days): the total count of the lactic acid bacteria (LAB) in Petrifilm™ LAB Plates, the molecular characterization and concentration of peptides by HPLC and a molecular exclusion column and the antihypertensive activity in QBO, was determined considering the concentration of hippuric acid generated during the reaction of the Enzyme-converting of the Angiotensin (ECA) with Hipuril-L-Histidyl-Leucine substrate by HPLC with a reverse phase column. For the characterization of the Agroindustry (AI) and consumer valorization: 6 AI were evaluated and 100 consumers of the QBO were surveyed. The results suggest that the longer the cheese ripening, the total LAB counts decreases, otherwise with the concentration of peptides that increased the FV and FVI of low molecular weight and the antihypertensive activity was higher than T3 and there was a significant difference ($p \leq 0.05$). The peptides were found in a range of 26,625-1,423 kDa. Most of the AI have an acceptable adoption rate; but in the profits, it is reflected if it has been favorable. The consumers of stratum 3 are the best willing to pay for the QBO, with higher economic income characteristics and a graduate school level.

Keywords: bioactive peptides, antihypertensive activity, traditional, innovation

* Thesis: Universidad Autónoma Chapingo

Author: Ing. Melbys López López

Advisor: Dr. Anastacio Espejel García

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

En México existe una gran diversidad de quesos tradicionales denominados también artesanales, son muy variados y heterogéneos en calidad, que compiten desventajosamente con productos industriales, muchos de ellos de imitación o sustitutos; sin embargo, los quesos artesanales forman parte de la cultura de los mexicanos y que para un estrato de la población representan más que un alimento, es decir, son valorados por aspectos intangibles como la tradición, cultura y la historia. Estos quesos están fuertemente vinculados a su lugar de origen o como bien mencionan los franceses al “*terroir*” y son un testimonio de la historia, la cultura de las comunidades que los producen y su *saber-hacer*; además, se elaboran en su mayoría con leche cruda de vaca, cabra u oveja, y con el empleo mínimo de aditivos y un elevado uso de recursos naturales que confieren la tipicidad y atributos únicos.

Los alimentos tradicionales constituyen una parte importante de la cultura, la identidad y herencia gastronómica mexicana. Sin embargo, los pequeños productores de este tipo de alimentos se enfrentan al reto de mejorar la seguridad, inocuidad y comodidad de sus productos mediante la incorporación de innovaciones que les permitan modernizarlos e incrementar su competitividad en un mercado cada vez más globalizado sin perder la esencia de lo tradicional. La aplicación de innovaciones en este tipo de productos deberá realizarse de manera consiente de tal forma que no origine una alteración de la imagen, tipicidad y genuinidad de los mismos.

Una característica distintiva de los productos tradicionales es que aparte de gozar de autenticidad e historia cultural, composicionalmente en el caso de productos madurados como los quesos, se generan compuestos tales como los péptidos

que podrían contribuir a valorizar y promover los beneficios de este tipo de productos. En los últimos años el estudio de los péptidos con actividad biológica ha tenido gran relevancia sobre todo porque estos componentes son capaces de ejercer actividades reguladoras en el organismo humano independientemente de su valor nutricional. Estos péptidos bioactivos necesitan ser liberados, para que su actividad biológica pueda llevarse a cabo, debido a que se encuentran encriptados en las proteínas de la leche. Una manera de obtener las secuencias peptídicas bioactivas es a través del sistema proteolítico de las bacterias ácido lácticas (BAL) durante la maduración o fermentación de productos lácteos. Las actividades biológicas sobre los péptidos bioactivos son variadas y comprenden: actividad opiácea, antihipertensiva, inmunomoduladora, antimicrobiana, antitrombótica, antioxidante, entre otras.

Los péptidos antihipertensivos son los péptidos bioactivos más estudiados de los alimentos, ya que éstos muestran actividad de inhibición contra la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA), la cual está relacionada con la regulación de la presión arterial por la modulación del sistema renina-angiotensina; es decir estos péptidos ayudan a reducir la presión arterial.

Por lo anterior, resulta importante el estudio de compuestos funcionales como son los péptidos bioactivos y la determinación de bacterias ácido lácticas en el Queso Bola de Ocosingo, Chiapas (QBO), ya que se ha reportado que algunas BAL producen péptidos con alguna actividad biológica. A partir de ello, esta investigación tuvo el propósito de generar una estrategia integral de posicionamiento del queso, combinando la caracterización de la agroindustria quesera, valorización de los consumidores del QBO y los aportes benéficos de los péptidos existentes en el queso a partir del desarrollo de las BAL en la maduración, considerando el valor artesanal y tradición de este producto.

Los capítulos que conforman la presente investigación son tres; en el primer capítulo se determinó la cuenta total de las BAL durante la maduración de los quesos Bola (5 días, 21 días y 40 días). En el segundo capítulo se determinaron péptidos en queso Bola y la actividad inhibitoria de la enzima convertidora de la

angiotensina o actividad antihipertensiva a diferentes periodos de maduración (5 días, 21 días y 40 días). El tercer capítulo tuvo como propósito caracterizar a la agroindustria quesera del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas y desarrollar una estrategia de valorización a partir del estudio del consumidor del queso Bola.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Marco teórico

2.1.1. Alimentos tradicionales

En los últimos años, la demanda por productos alimenticios tradicionales ha aumentado, existe una nueva tendencia de estilo de vida conocida como “consumo verde”, por personas que demandan alimentos orgánicos, ya que cuentan con niveles bajos de químicos aplicados para la conservación del alimento y lo consideran más natural, el cual ha llevado a un interés particular por los productos alimenticios tradicionales (TFP) (Settanni & Moschetti, 2014).

La EuroFIR (2007) define alimento tradicional como: un alimento de una característica o características específicas, que lo distinguen claramente de otros productos similares de la misma categoría en términos del uso de ingredientes tradicionales (materias primas o productos) o composición tradicional o tipo de producción tradicional o método de procesamiento. También un alimento tradicional es un producto consumido o asociado con celebraciones o épocas del año específicas; normalmente es transmitido de generación en generación, elaborado con esmero de una forma concreta, según la herencia gastronómica, con poco o ningún procesado, diferenciado y conocido por sus propiedades sensoriales y asociado a una localidad, región o país determinado (Guerrero, Guardía, Xicola, Verbeke, Vanhonacker, Zakowska-Biemans, & Hersleth, 2008).

Los alimentos tradicionales constituyen un factor importante como elemento de la cultura, identidad regional y el patrimonio culinario de regiones; su producción y venta representan un aporte económico y social decisivo y contribuyen a la diversificación, al desarrollo y la sostenibilidad de las zonas rurales, previniendo el éxodo; los alimentos tradicionales otorgan un potencial de diferenciación

proporcionando una amplia variedad de productos para elección de los consumidores (Guerrero, Claret, Verbeke, Enderli, Zakowska-Biemans, Vanhonacker & Herslet, 2010).

Desafortunadamente, en diferentes partes del mundo, los alimentos tradicionales, se encuentran en peligro de extinción debido a los cambios y ritmos de vida contemporáneos. Los nuevos estilos de vida demandan mayor cantidad de productos, mayor tiempo de conservación y una manera más fácil y económica de adquirir los alimentos (Trichopoulou *et al.*, 2006). Además, los TFP corren el riesgo de ser imitados, es decir que no sean auténticos ni genuinos. Son elaborados con otro tiempo de proceso ajeno al original y materia prima estandarizada o de una procedencia desconocida. Principalmente se llega a este tipo acciones por la reducción de costos y bajos precios de estos alimentos para la aceptabilidad del consumidor, poniendo en riesgo a un alimento tradicional, el cual generalmente es más caro.

2.1.2. Quesos tradicionales mexicanos

Un queso tradicional puede ser definido entonces como aquel que posee una raíz histórica que se remonta en décadas o siglos. Los quesos tradicionales se caracterizan por sabores intensos y diferentes, con una variabilidad razonablemente alta incluso dentro de la variedad de queso, además son productos de nicho de mercado, que generalmente son hechos a mano y producidos a nivel local (Villegas, Santos & Cervantes, 2016; Licitra, 2010).

La complejidad del queso mexicano como un alimento cultural se debe a que es resultado de numerosos factores, como el medio ambiente, el clima, la raza de los animales, el tipo de flora nativa con la que se alimentan los animales, la manera en que es manejada la leche cruda, la microflora natural de la leche, el uso y tipo de cuajo, la tecnología utilizada para la elaboración del queso, las herramientas tradicionales empleadas y la maduración del queso, entre otros. Todo lo anterior se realiza mediante un proceso único que solamente el quesero

conoce y sin depender de tecnologías avanzadas o modernas para la elaboración del queso (Licitra, 2010).

En el país existen más de 40 variedades de quesos tradicionales, algunos gozan de una amplia difusión como el queso Chihuahua, el tipo machego mexicano, el panela, el asadero y el Cotija. Otros solamente se conocen en ciertas regiones, por ejemplo el queso crema de Chiapas, Queso Bola de Ocosingo, Chiapas, el queso añejo de Zacazonapan y el queso Poro de Tabasco (Cervantes, Villegas, Cesín & Espinoza, 2006).

2.1.3. Queso Bola de Ocosingo Chiapas

El Queso Bola de Ocosingo, Chiapas (QBO) es un queso original y atípico de los quesos mexicanos tradicionales, principalmente por su apariencia de una bola y proceso de elaboración. Se elabora con leche cruda de vaca de doble propósito, generalmente de cruza de cebú y pardo suizo. Está formado por dos tipos de quesos, uno dentro de otro, su elaboración puede dividirse en dos fases: la elaboración de la pasta del núcleo por cuajado mixto (láctico-enzimático) y la elaboración de la corteza o forro derivada de una cuajada de pasta hilada hecha con leche totalmente descremada (Villegas, Cervantes, Cesín, Espinoza, Ortega, Hernández, Santos & Martínez, 2014).

La elaboración del Queso Bola se realiza durante un lapso mayor a las tres semanas (21 días), ya que es necesario madurar ligeramente la pasta del núcleo a temperatura ambiente, antes de colocarle el forro. Finalmente, el queso del núcleo se compacta a mano en forma de bola y se cubre por dos capas sucesivas del queso de pasta hilada para el forro, el cual es rica en caseína, que, al enfriarse y orearse, se endurece y funciona como en empaque propio del Queso Bola (Cervantes, Villegas, Cesín & Espinoza, 2008).

El Queso Bola es un producto típico cuya calidad está ligada al origen, se elabora en Ocosingo, Chiapas y lo elaboran unos cuantos queseros artesanales, cuyo conocimiento tecnológico se basa en un saber-hacer tradicional que ha pasado

de generación en generación por tradición oral y práctica, y que constituye parte del capital cognitivo del territorio donde se elabora este producto (López, 2013; González-Córdova Yescas, Ortiz-Estrada, De la Rosa-Alcaraz & Hernández-Mendozal., 2016).

2.1.4. Bacterias ácido lácticas (BAL)

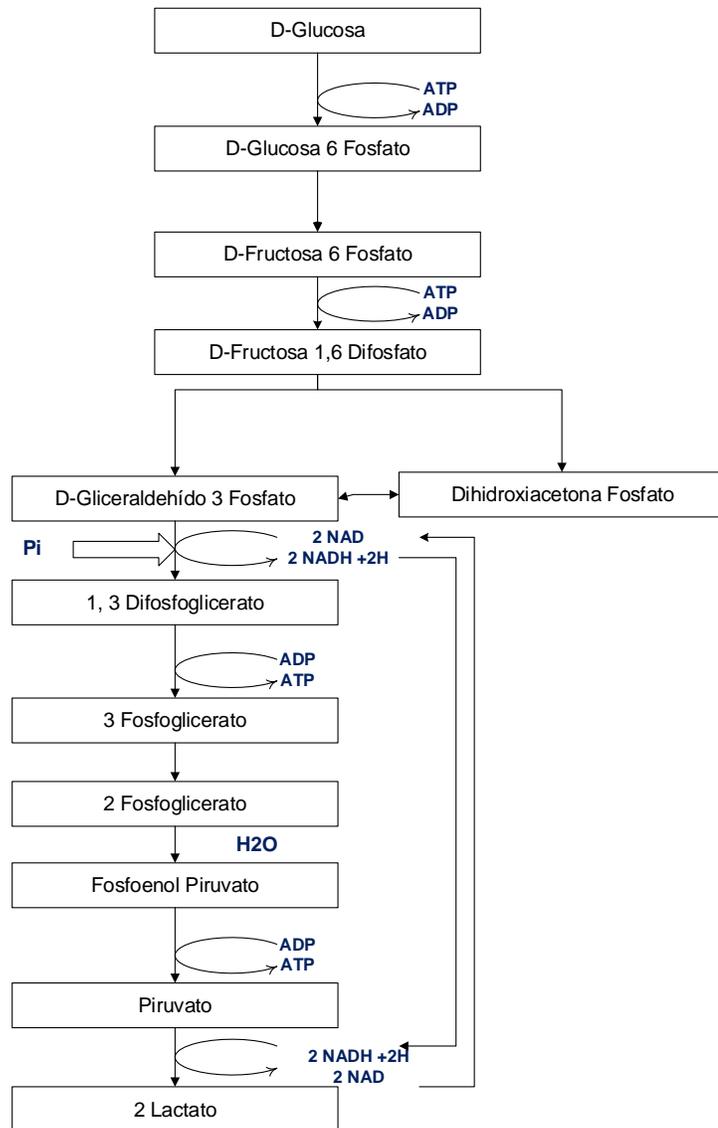
Las bacterias del ácido láctico (BAL) pertenecen a una gran familia de bacterias fermentativas Gram positivas, generalmente inmóviles, no esporuladas, microaerófilas, con forma de bacilos o cocos. Producen ácido láctico como principal producto de fermentación a partir de la glucosa, y se producen naturalmente como microbiota autóctona de la leche cruda. Su presencia contribuye a las grandes diferencias en las características organolépticas, bioquímicas y de sabor de los productos lácteos artesanales (Bao, Liu, Yu, Wang, Qing, Chen, Wang, Zhang, Qiao, Sun & Zhang, 2012; Domingos-Lopes, Stanton, Ross, Dapkevicius, & Silva, 2017).

El grupo de las BAL está compuesto por 13 géneros, siendo las más estudiadas: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, por su incidencia en los alimentos. Dentro de los géneros que conforman las BAL, se clasifican en dos grupos heterofermentativas y homofermentativas (Drouault & Corthier, 2001; Jay, Loessner & Golden, 2005).

Homofermentativas: producen ácido láctico como el producto de la fermentación; poseen enzimas aldosa y hexosa isomerasa, utilizando la vía Embden-Meyerhof. Sin embargo, hay homofermentativas obligadas y facultativas. Estas tienen glucosa-6-P-deshidrogenasa y siguen la vía de las pentosas. Los géneros *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, junto con algunos lactobacilos son homofermentativos (Parés & Juárez, 1997; Jay *et al.*, 2005).

Las bacterias ácido lácticas homofermentativas utilizan la ruta de Embden – Meyerhof (EMP), esta ruta es la más extendida para la conversión fermentativa de glucosa en ácido pirúvico, donde el sustrato orgánico experimenta una serie

de reacciones oxidativas y reductoras equilibradas. En esta reacción el NADH se oxida a NAD⁺ y el ácido pirúvico se reduce, transformándose en ácido láctico en presencia de la enzima lactato deshidrogenasa, como se muestra en la Figura 2.1.1, en la conversión del piruvato a lactato (Parra, 2010).

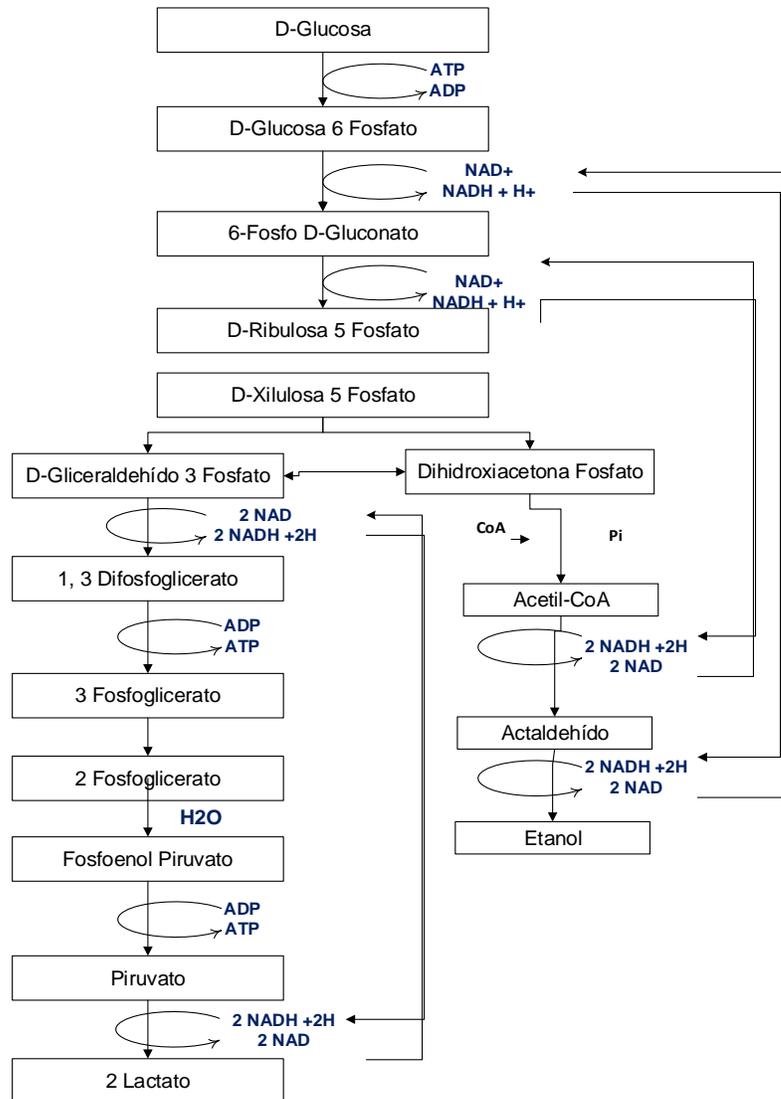


Fuente: Parra, 2010.

Figura 2.1.1. Metabolismo de las bacterias ácido lácticas homofermentativas.

Heterofermentativas: producen siempre, además de ácido láctico, otros productos finales de la fermentación heteroláctica, como etanol, aldehídos y dióxido de carbono (CO₂) a partir de la ruta de las hexosas; poseen sólo la enzima fosfocetolasa por lo que siguen las vías monofosfato de hexosa o de las pentosas. Todas las especies de *Leuconostoc*, así como lactobacilos, son microorganismos heterofermentativos (Parés & Juárez, 1997; Jay et al., 2005).

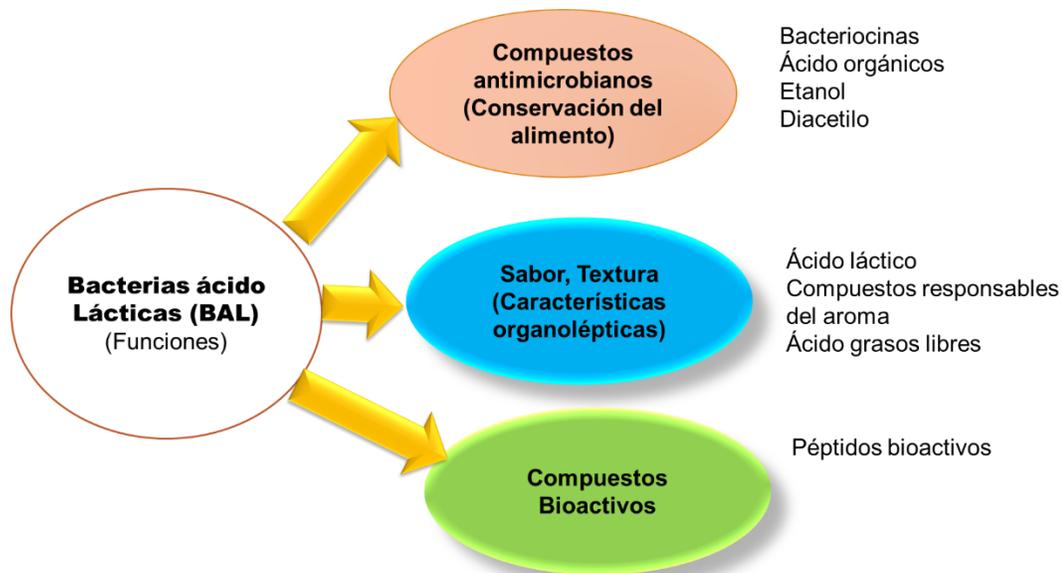
Las especies heterolácticas obligadas utilizan solamente la ruta dependiente fosfocetolasa para metabolizar azúcares, y además de ácido láctico, ellas producen cantidades significativas de ácido acético y/o etanol con la generación de dióxido de carbono; la D-galactosa puede ser metabolizada a través de la ruta tagatosa 6-fosfato o ruta Leloir como se representa en la Figura 2.1.2. Estas especies fermentativas metabolizan hexosas a través de la ruta glicolítica Embden-Meyerhof, pero pentosas y algunas otras sustancias son metabolizadas vía fosfocetolasa para producir ácido láctico y otros productos (típicamente ácido acético y etanol) (Parra, 2010).



Fuente: Parra, 2010.

Figura 2.1.2. Metabolismo de las bacterias ácido lácticas heterofermentativas.

Las BAL se hallan en la leche cruda, lo mismo que en carne y vegetales crudos; algunas especies también son habitantes normales del cuerpo humano. Los quesos artesanales pueden albergar una rica diversidad de BAL con propiedades funcionales (Figura 2.1.3). Las características específicas del sabor y el aroma de las variedades de quesos artesanales, elaboradas tradicionalmente, pueden atribuirse al tipo de leche, su calidad microbiológica, el grado de acidificación de la cuajada, la tecnología de fabricación o las condiciones de maduración.



Fuente: Parra, 2010; Villegas, 2012.

Figura 2.1.3. Propiedades funcionales de las BAL en los alimentos.

La capacidad proteolítica de las BAL desempeña un papel muy importante durante la fermentación de la leche, principalmente en el fraccionamiento de proteínas a péptidos y aminoácidos libres; algunos de estos péptidos presentan actividad biológica por lo que son considerados péptidos bioactivos. (González-Olivares, Jiménez-Guzmán. Cruz-Guerrero, Rodríguez-Serrano, Gómez-Ruíz & García-Garibay, 2011; Domingos-Lopes *et al.* 2017).

2.1.5. Péptidos bioactivos

Las proteínas, son de alto valor biológico y son altamente digeribles, pero además pueden funcionar como precursores de péptidos bioactivos que pueden ejercer diversos efectos biológicos en el cuerpo humano, tales efectos antihipertensivos, antimicrobianos, inmunomodulatorio y antioxidante, entre otros (López-Expósito, Amigo & Recio, 2012).

Los péptidos funcionales o bioactivos son fragmentos específicos de proteínas (secuencias de aminoácidos inactivos) que están en el interior de la proteína precursora, pero que ejercen determinadas actividades biológicas tras su

liberación mediante hidrólisis química o enzimática. Generalmente son péptidos de tamaño pequeño, de 3 a 20 aminoácidos (Möller, Scholz-Ahrens, Roos, & Schrezenmeir, 2008; Lorenzo 2015).

Para que exista un efecto fisiológico in vivo, es necesario que los péptidos bioactivos sean liberados durante la digestión y que alcancen el lugar donde ejercen su acción en el tracto intestinal o después de su reabsorción en los órganos periféricos. Además de haber demostrado la formación de estos péptidos bioactivos por digestión in vivo e in vitro, también hay estudios que demuestran que son liberados durante la elaboración de los productos lácteos tales como, leches fermentadas, quesos y sueros derivados de quesería (Figura 2.1.4) (Lorenzo, 2015).

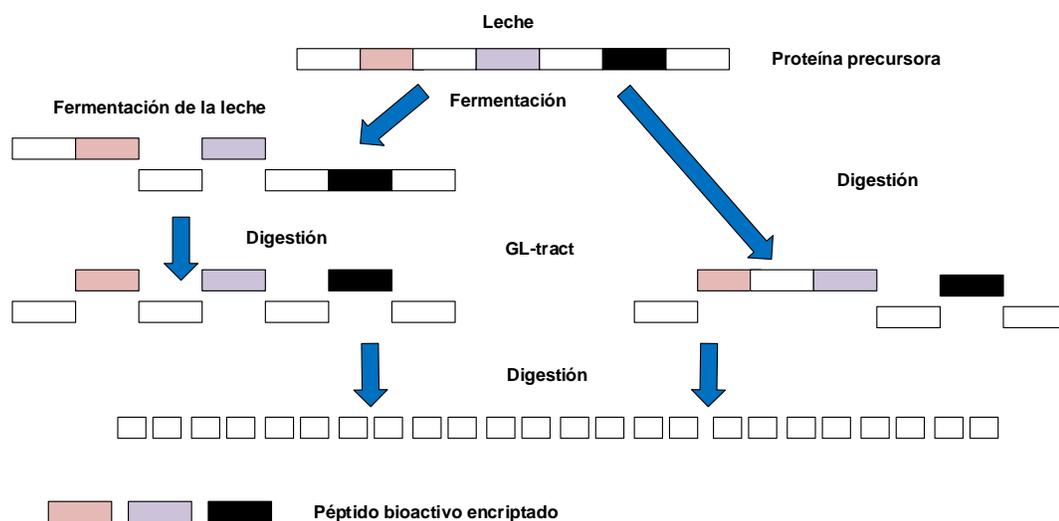


Figura 2.1.4. Esquema de posibles diferencias entre péptidos liberados de proteínas precursoras por fermentación y / o digestión gastrointestinal.

Se han descrito distintas actividades para los péptidos bioactivos (Figura 2.1.5) entre las que se destacan inmunoestimulante, antimicrobiana, opioide, antitrombotica y sobre todo la reducción de la presión arterial por inhibición de la enzima convertidora de angiotensina, implicada en la regulación de la presión arterial.

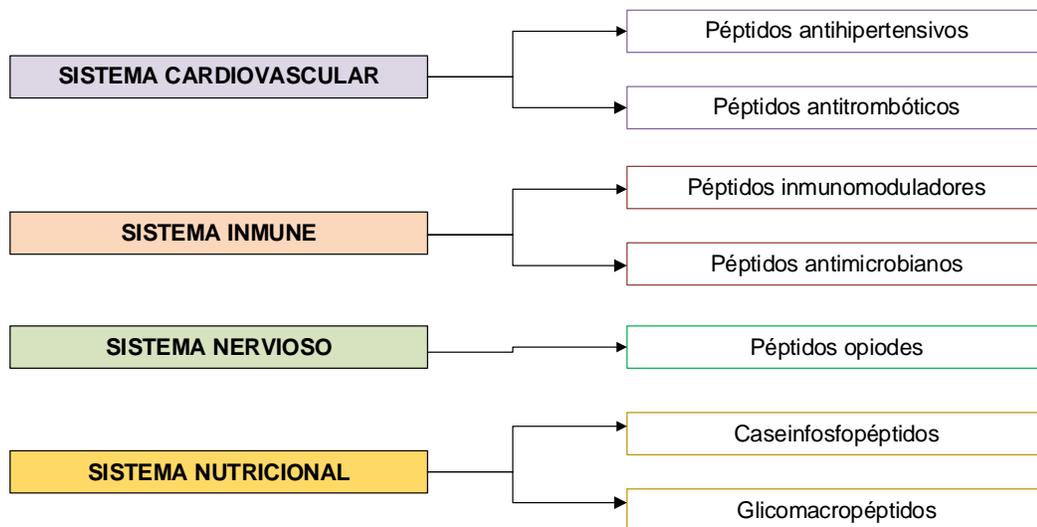


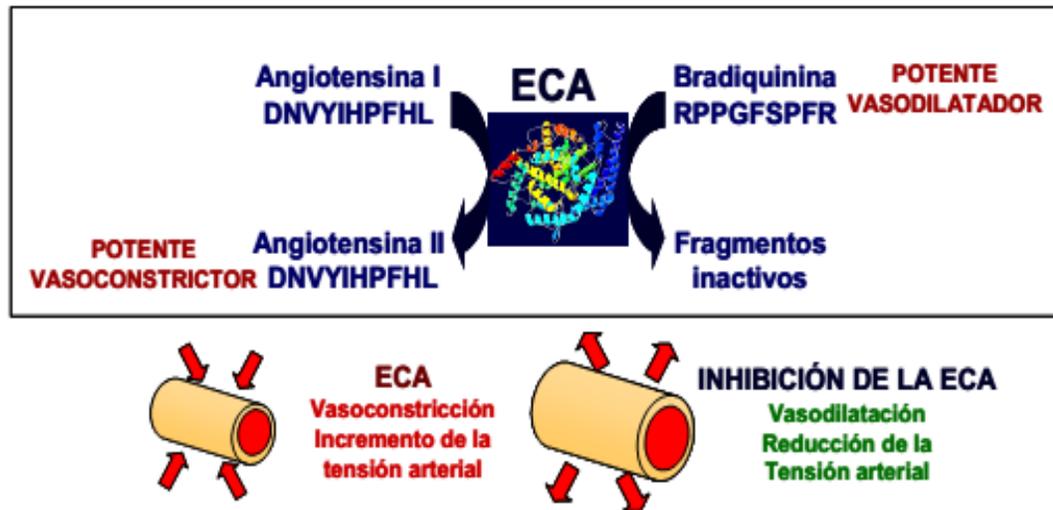
Figura 2.1.5. Principales funciones de los péptidos bioactivos de las proteínas lácteas.

2.1.5.1. Actividad antihipertensiva

La hipertensión es el principal factor de riesgo para sufrir una enfermedad cardiovascular, siendo así un problema de salud pública, cuya prevalencia está en aumento. La hipertensión afecta entre el 20-40 % de la población adulta en las Américas. Los péptidos que poseen actividad antihipertensiva lo hacen por inhibición de la enzima de la conversión de angiotensina. La enzima es clave en la regulación de la presión sanguínea al convertir la angiotensina I en angiotensina II que es un vasoconstrictor potente. Se han descrito péptidos que muestran esta actividad: tres péptidos de α -S1 caseína y dos de la β -caseína (Baró, Jiménez, Martínez-Férez & Bouza, 2001).

La ECA (EC 3, 4, 15, 1) es uno de los componentes principales del sistema renina angiotensina, y juega un papel fundamental en la regulación de la presión arterial en el organismo. La ECA aumenta la presión sanguínea al catalizar la conversión del decapeptido angiotensina I en el octapéptido angiotensina II, el cual es un potente vasoconstrictor (Skeggs, Kahan & Sumway, 1956). Además la ECA también actúa en el sistema quinina-caliceína catalizando la degradación del

nonapéptido vasodilatador bradiquinina. Los inhibidores de la ECA reducen la formación de la angiotensina II y la degradación de la bradiquinina, disminuyendo así la vasoconstricción de las arterias y produciendo por tanto un efecto hipotensor (Figura 2.1.6).



Fuente: Quirós, 2007.

Figura 2.1.6. Reacciones catalizadas por la ECA (Enzima Convertidora de Angiotensina).

Existen varios métodos para medir la actividad de inhibición de la ECA *in vitro* que se emplean para seleccionar potenciales sustancias con actividad antihipertensiva *in vivo*. La mayoría de estos estudios utilizan el péptido sintético Hipuril-Histidil-Leucina que al ser incubado con la ECA produce ácido hipúrico y el dipéptido His-Leu, siendo estos productos de la reacción posteriormente cuantificados por diversos métodos: colorimétricos, fluorimétricos, por electroforesis capilar, por cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC) etc. (Quirós, 2007).

Existen evidencias de que se pueden liberar péptidos bioactivos durante los procesos de elaboración de los productos lácteos. Durante la maduración de los

quesos son formados una gran variedad de péptidos que se ha mostrado tienen algún tipo de actividad (Cuadro 2.1.1).

Cuadro 2.1.1. Ejemplos de péptidos bioactivos derivados de proteínas lácteas (quesos).

Producto	Ejemplos de péptidos bioactivos identificados	Bioactividad
Queso Cheddar	α_{s1} - y fragmentos de β -caseína	Acarreadores de minerales
Quesos italianos Mozzarella Crescenza Itálico	β -cn f(58-72)	Inhibidores de la ECA Inhibidores de la ECA
Queso Emmental	α_{s1} - y fragmentos de β -caseína	Acarreadores de minerales Antimicrobianos Inmunoestimulante
Queso Manchego	Ovino α_{s1} -, α_{s2} - y fragmentos de β -caseína	Inhibidores de la ECA
Queso cocido de Sonora	ND	Actividad antioxidante
Queso fresco de Sonora		
Queso Crema de Chiapas	ND	Actividad antioxidante

ND: No Determinado

Fuente: Korhonen & Pihlanto, 2003.

2.1.5.2. Actividad inmunomoduladora y antimicrobiana

Determinados péptidos que ejercen un efecto protector sobre el organismo ya sea potenciando el sistema inmune o mostrando un efecto antimicrobiano. Suelen ser pequeños péptidos de 4-6 aminoácidos, como por ejemplo el Met-enkephalin, que altera la respuesta inmune y retrasa la respuesta de hipersensibilidad cutánea. Como ejemplo de actividad antimicrobiana, se cita fragmentos de la caseína α conocidos como isracidina, que muestran *in vivo* un efecto antimicrobiano frente a *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* (Baro *et al.*, 2001).

2.1.5.3. Actividad antioxidante

Los péptidos antioxidantes actúan impidiendo que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar más rápido con los radicales libres que con el resto de las moléculas presentes en el microambiente de membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular. (Ruiz, Segura, Betancur & Chel, 2013).

Estudios recientes han demostrado que los péptidos antioxidantes pueden ser liberados de las caseínas mediante hidrólisis con enzimas digestivas y por proteólisis durante la fermentación de la leche. Estos péptidos están compuestos de 5 a 11 aminoácidos, entre los que se encuentra aminoácidos hidrófobos como: Pro, His, Tyr, Trp.

2.1.5.4. Actividad antitrombótica

Los péptidos con actividad antitrombótica o casoplatelinas son derivados del extremo del C-terminal (caseinoglicomacropéptido) de la κ -caseína bovina; son similares a la cadena γ del fibrinógeno. Su actividad consiste en inhibir la agregación plaquetaria, así como inhibir la unión de la cadena γ del fibrinógeno humano a receptores específicos de las plaquetas impidiendo la formación del trombo.

La actividad antitrombótica ejercida por el fragmento Lys-Arg-Asp-Ser, derivado de la lactoferrina, se debe a otro mecanismo de acción, ya que inhibe, de manera dosis dependiente, la agregación plaquetaria inducida por ADP, debido a la homología con el fragmento f (572-575) de la cadena α del fibrinógeno (Mazoyer, Lévy-Toledano, Rendu, Hermant, Fiat, Jollés & Caen, 1990).

2.1.5.5. Actividad opiácea

La actividad opiácea es originada por un hidrolizado de proteínas lácteas, dio lugar al concepto de “exorfina”, o péptido opiáceo de origen dietético, en contraposición de “endorfina” o péptido endógeno. Los péptidos opioides son aquellos que poseen características farmacológicas parecidas al opio (morfina). Los péptidos opioides típicos son conocidos como endógenos y son derivados de encefalinas, endorfinas y dinorfinas. Estos actúan como receptores ligandos de opioides. Los efectos fisiológicos de estos péptidos dependen del tipo de receptor: los receptores μ están vinculados al control de la motilidad intestinal y comportamiento emocional, los receptores δ al control del comportamiento emocional y los receptores κ están relacionados con analgesia y saciedad (González- Córdoba, Torres-Llenez & Vallejo-Córdoba, 2005).

2.1.6. Innovación en productos tradicionales

La innovación se ha convertido en el principal componente de la competitividad. Para lograr su gestión, las empresas deben aprovechar el poder de la ubicación en el terreno de la creación y comercialización de nuevas ideas. El manual de Oslo (2006) define una innovación como *la introducción de un nuevo, o significativamente mejorado, producto (bien o servicio), de un proceso, de un nuevo método de comercialización o de un nuevo método organizativo, en las prácticas internas de la empresa, la organización del lugar de trabajo o las relaciones exteriores* (OCDE, 2006).

En el sector alimentario, la innovación se considera uno de los factores más importantes para mejorar la competitividad en los mercados nacionales e

internacionales. Un ejemplo sería la creciente demanda de productos alimenticios tradicionales (TFP) en combinación con la importancia de la innovación para obtener mayor ventaja competitiva. Los miembros de las redes alimentarias tradicionales se enfocan principalmente en las innovaciones relacionadas con las características del producto y en la innovación organizativa. Sin embargo, hay que considerar que un producto tradicional va más allá de las innovaciones (Cuadro 2.1.2) que existe, ya que es necesario tomar en cuenta que tanto la materia prima como el proceso de producción no debe modificarse, pues en sí mismo el proceso tradicional es una innovación, esto, para seguir conservando el carácter tradicional y genuino del producto. Por lo que la innovación de productos tradicionales es un tema que se debe tratar con mucha sensatez, siendo aceptable cuando se asegura la conservación y/o apoya la mejora de la imagen del producto alimenticio tradicional (Gellynck & Kühne, 2008; Van den Heuvel, de Langen, van Donselaar, & Fransoo, 2011)

Las innovaciones, aunque controvertidas en el contexto de los alimentos tradicionales, son esenciales para hacer frente a la oportunidad competitiva. El sector agroindustrial se caracteriza por una gran cantidad de micro, pequeñas y medianas empresas (PYME), y como una industria de baja tecnología. Esto aplica para el sector alimentario tradicional en particular. Por lo tanto, los TFP son productos alimenticios de los cuales: los pasos clave de producción se realizan en un área determinada a nivel nacional, regional o local, son auténticos en su proceso de elaboración (mezcla de ingredientes), origen de la materia prima, y/o proceso de producción, están disponibles comercialmente durante aproximadamente 25-50 años y son parte del patrimonio gastronómico (Kühne, Vanhonacker, Gellynck & Verbeke, 2010).

La capacidad de innovación de una empresa depende de factores internos y externos. Algunos factores internos como: actividad rutinaria cuando el grupo permanente, actividad no rutinaria, cuando el grupo se maneja por proyectos o ideas espontáneas, formación del personal, experiencia directiva, y resistencia al cambio, calificación del personal, estrategia de participación en el mercado, o

conquistar nuevos mercados, estrategias de costos, estrategias de calidad y el tamaño de la empresa. Los factores externos como: clientes y proveedores, universidades, institutos públicos y privados, desarrollos a partir de la competencia, seminarios, ferias, licencias, patentes, el saber-hacer, empresas que realicen proyectos de investigación y desarrollo, empresas que adquieren tecnologías incorporadas al capital, empresas que realizan actividades de capacitación tecnológica y fuentes de financiamiento (Hernández, Domínguez & Caballero, 2007).

Las innovaciones que proporcionan a los consumidores beneficios tangibles y relevantes sin producir cambios sustanciales en el producto son bien aceptadas en TFP (empaques, nutricionales e innovaciones orientadas a la conveniencia). Sin embargo, y aunque pueden ser aceptados, en algunos casos estas innovaciones pueden dañar el carácter tradicional de la comida (Guerrero et al., 2008).

Cuadro 2.1.2. Resumen de innovaciones en las cadenas alimentarias tradicionales.

Actor	Proceso	Producto	Innovación	
			Marketing	Organizacional
Productor de alimentos tradicionales	Nuevas soluciones técnicas para mejorar la calidad y trazabilidad a lo largo de sistema de control (SC)	Cambios en la composición del producto	Uso de canales de distribución alternativos (por ejemplo, pequeñas tiendas especializadas)	Formación de membresía organizaciones de investigación
		Nuevas formas de uso del producto tradicional		
	El cambio en el proceso sería una desviación de la regla del maestro	Nuevo tamaño y forma del producto	Posicionamiento, la promoción o tarificación del producto	Actividades conjuntas de desarrollo de productos
		Nuevo uso en la preparación del producto		Formación de redes de innovación respaldadas por el gobierno
Proveedor	Nuevas soluciones técnicas para mejorar la calidad y trazabilidad a lo largo de SC	Cambios en la composición del producto		
		Nueva comida		
Consumidor		Innovación en el paquete sin cambiar demasiado el diseño	Uso de canales de distribución alternativos (por ejemplo, pequeñas tiendas especializadas)	
		Combinaciones de nuevos productos empacados juntos	Buscar productos alimenticios tradicionales poco conocidos y respaldar su	
		Nueva composición del producto	comerciabilidad	

Fuente: Elaboración propia con datos de Gellynck & Kühne (2008).

2.1.7. Análisis de consumidores

El comportamiento de compra del consumidor designa aquella parte del comportamiento de las personas asociado a la toma de decisiones a lo largo del proceso de adquisición de un producto, con tal de satisfacer sus necesidades. Este comportamiento suele ser irracional e impredecible. Los consumidores a menudo dicen una cosa pero hacen otra; sin embargo el esfuerzo empleado en tratar de entenderlos es valioso, debido a que puede proporcionar el conocimiento necesario acerca de cómo diseñar productos y programas de mercadotecnia que satisfagan sus necesidades y deseos (Ferrell & Hartline, 2006; Kotler & Armstrong, 2008).

De acuerdo con Kotler & Armstrong (2008), el comportamiento de compra del consumidor se origina a partir de determinados estímulos externos que este recibe, los cuales son gestionados internamente en función de sus propias características. En este sentido se puede diferenciar dos tipos de condiciones del comportamiento del consumidor:

Condiciones externas

Estímulos de marketing: Consisten en las acciones emprendidas por la empresa con tal de incidir en nosotros motivando la compra de sus productos. En concreto, englobarían las cuatro P's: producto, precio, distribución y comunicación.

Estímulos del entorno: Formados por las principales fuerzas y acontecimientos del macroentorno del consumidor, tales como la economía, la tecnología, la política, la sociedad y la cultura, la demografía o la legislación.

Condiciones internas

Factores culturales: Son los que ejercen una influencia más fuerte en el comportamiento de compra. El responsable de marketing debe comprender el papel que desempeña la cultura, la subcultura y la clase social del comprador.

Factores sociales: Los factores sociales, tales como los grupos de referencia del consumidor, los roles y los estatus, también ejercen una alta influencia en el comportamiento del consumidor.

Factores personales: Las decisiones de compra también se encuentran influidas por las características personales, principalmente la edad y la fase del ciclo de vida del comprador, su ocupación, sus circunstancias económicas, su estilo de vida, su personalidad y su concepto de sí mismo.

Factores psicológicos: La elección de compra de un individuo también se verá influida por cuatro importantes factores: la motivación, la percepción, el aprendizaje y las creencias y actitudes.

Dado que los consumidores se han vuelto más exigentes y más estrictos en las últimas décadas, los productores de alimentos se han enfrentado a desafíos conflictivos. Tal es el caso de alimentos tradicionales, cuyos productores aún se enfrentan con el reto de mejorar aún más la seguridad, calidad, salubridad y conveniencia de sus diferentes productos mediante innovaciones, lo que les permitirá mantener y expandir su participación de mercado en un mercado mundial de alimentos altamente competitivo y global. Por ello, es necesario valorar las percepciones, expectativas y actitudes de los consumidores hacia los productos alimenticios tradicionales (TFP) (Guerrero *et al.*, 2008).

Los alimentos tradicionales desempeñan un papel importante en el mantenimiento de la diversidad de alimentos, al servicio de las necesidades específicas de los consumidores locales y el patrimonio cultural nacional. Los alimentos tradicionales contribuyen al desarrollo y la sostenibilidad de las áreas rurales, para protegerlas de la despoblación, y mejorar la diferenciación sustancial del producto y proporcionar amplias variedades para los consumidores (Kristbergsson, Kristberg; Oliveira, 2016).

2.1.8. Valoración de los alimentos tradicionales

En la sociedad actual los hábitos de consumo están cambiando y las tendencias muestran una preocupación creciente por la salud y por el medio ambiente. Ambos factores, constituyen dos de las tendencias que con mayor relevancia afectan al consumo, lo que lógicamente se traduce en una demanda creciente de productos saludables y respetuosos con el medio ambiente (Montoro & Castañeda, 2005). La preferencia por un producto, entre todas las opciones disponibles en el mercado, implica una elección de carácter discreto. Cada producto es una alternativa que se caracteriza por un conjunto de atributos y asociada a cada uno de ellos existe una valoración subjetiva, a partir de la cual es posible aproximar a una función de utilidad (Lacaze & Lupín, 2007).

Uno de los aspectos más relevantes en investigación de mercado es determinar las preferencias de los consumidores de tal forma que los productores puedan adaptarse a dichas preferencias. El método de valoración contingente, está siendo aplicado en la investigación acerca de la seguridad alimentaria, con el fin de estimar la disposición al pago por cambios o conservación de ciertos atributos de los alimentos. Se ha aplicado al marketing agroalimentario en algunas ocasiones, siendo destacables las contribuciones al análisis de la conducta de compra de los individuos en los establecimientos detallistas de alimentación y los factores explicativos del consumo de un alimento (Cerdeira, García, González, & Salvatierra, 2011).

Lacaze & Lupín (2007) realizaron la valoración contingente para el caso de pollo orgánico en Buenos Aires, Argentina, y sus resultados demostraron que existe una valoración positiva por dicho alimento con calidad diferenciada, dado que los consumidores evidenciaron estar preocupados por la calidad e inocuidad del alimento que consumen y afirmaron estar dispuestos a pagar una prima de precio adicional para adquirirlo. En México también se ha utilizado este método para determinar las preferencias de los consumidores, tal es el caso, en el consumo de carne de bovino, se demostró que los consumidores están dispuestos en

pagar un sobrepago por la carne si presentan atributos de inocuidad y que sea orgánico (Luis & Villanueva, 2018).

Los alimentos artesanales se han posicionado en las preferencias del consumidor, ya que representan alimentos de elaboración tradicional y genuina en donde se asume de manera implícita la contribución de algunos atributos intangibles con los que puede alcanzar un mayor valor económico. Esa percepción le da al alimento una identidad cultural, que proporciona una apreciación de calidad y legitimidad a los consumidores, incluso si nunca lo habían probado. El Queso Bola de Ocosingo, Chiapas podría representar, en este sentido, un potencial de crecimiento muy relevante ya que, al ser elaborados artesanalmente, con características únicas asociadas a su entorno y a las condiciones climáticas, geográficas y el saber-hacer del queso, conservan la tipicidad del producto y los consumidores relacionan estas características como un producto más natural y de mayor valor intangible.

2.2. Marco de referencia

2.2.1. Región de estudio

El municipio de Ocosingo, Chiapas se localiza en las Montañas del Oriente (Figura 2.2.1), por lo que la mayor parte de su territorio es montañoso. Sus coordenadas geográficas son 16° 54"™ N y 92° 06"™W. Su altitud es de 900 msnm. Limita al norte con el municipio de Palenque, al este y al sur con la República de Guatemala, al suroeste con las Margaritas y al noroeste con Chilón, Oxchuc, Altamirano y San Juan Cancuc (INAFED, 2016).

El territorio físico de Ocosingo presenta los siguiente climas: cálido húmedo con abundantes lluvias en verano (62.10 %); cálido sub húmedo con lluvias en verano (12.38 %); semicálido húmedo con abundantes lluvias en verano (12.27 %); cálido húmedo con lluvias todo el año (11.17 %). La precipitación se ubica entre 1500 mm y 3400 mm por año, mientras que la temperatura media anual se sitúa entre 18 y 28 °C.



Fuente: INEGI, 2016.

Figura 2.2.1. Localización de Ocosingo, Chiapas.

2.2.2. Producción de leche en Chiapas

Cuadro 2.2.1. Producción anual de leche en el Municipio de Ocosingo, Chiapas.

Producto	Año	Producción (miles de L)
Leche Bovino (Producción nacional)	2017	11,969,879
	2017	425,343
Leche Bovino (Edo. Chiapas)	2016	423,965
	2015	423,627
	2014	410,738

Fuente: SIAP, 2018.

La producción de Leche en el municipio de Ocosingo, Chiapas, ha venido fluctuando en los últimos 3 años, en altas y bajas (Cuadro 2.2.2); sin embargo, la diferencia entre años es mínima.

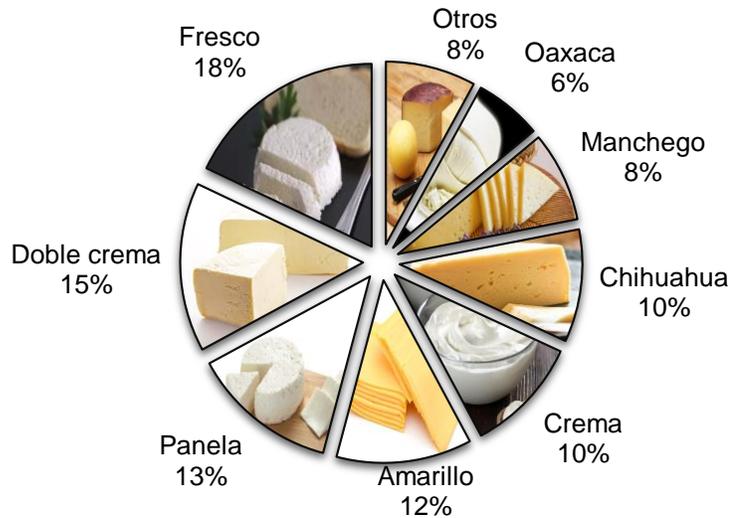
Cuadro 2.2.2. Producción de leche en Ocosingo, Chiapas.

	Año	Producción (miles de L)	Porcentaje de participación
Chiapas	2016	423,965	100
	2016	251	0.059
	2015	241	0.057
Ocosingo, Chis.	2014	247	0.058

Fuente: SIAP, 2017.

Al concluir agosto de 2017, la elaboración de derivados y fermentos lácteos como quesos, crema y yogurt alcanzó un volumen de 760 mil 202 toneladas, con un valor de 32 mil 20 millones de pesos. Por su parte, la industria de quesos produjo 263 mil 92 toneladas con un valor en el mercado de 12 mil 981 millones de pesos.

Las estadísticas de la producción de queso en México son muy escasas, puesto que todo se enfocan en la producción de leche; sin embargo, en el SIAP, se encontró estadística del año 2017 (Figura 2.2.2) que se enfocan en la producción de quesos comerciales, no a los quesos artesanales colocados en la columna de "Otros", probablemente los quesos se posicionan en esta producción.



Fuente: SIAP, 2017.

Figura 2.2.2. Participación en la producción de quesos tipo en México.

En Ocosingo, Chiapas, existen alrededor de 10 queserías que elaboran el tradicional Queso Bola de Ocosingo (López, 2013). A diferencia de los otros sistemas agroindustriales como el del Queso Asadero de Aguascalientes, en el que los lecheros y los queseros están distribuidos en todo el territorio del municipio y en algunas colonias, en el caso del Sistema Agroindustrial (SAI) Leche-Queso Bola de Ocosingo, Chiapas, todos están concentrados en la cabecera municipal (López, 2013).

2.3. Literatura citada

- Bao, Q., Liu, W., Yu, J., Wang, W., Qing, M., Chen, X., ... Zhang, H. (2012). Isolation and identification of cultivable lactic acid bacteria in traditional yak milk products of Gansu Province in China. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 58(2), 95–105. <http://doi.org/10.2323/jgam.58.95>
- Baró L., Jiménez J., Martínez-Férez A. y Bouza J. J. (2001). Péptidos y proteínas de la leche con propiedades funcionales.
- Cervantes, F., Villegas, A., Cesín, A., & Espinosa, A. (2006). Los quesos mexicanos genuinos: un saber hacer que se debe rescatar y preservar. *III Congreso Internacional de La Red SIAL Alimentación Y Territorios*.
- Cervantes-Escoto, F., A. Villegas de Gante, J. A. Cesín-Vargas, and A. Espinoza-Ortega. 2008. Los Quesos Mexicanos Genuinos. Patrimonio cultural que debe rescatarse. 1st ed. Mundi Prensa México, México City, Mexico.
- Cerda, A. A., García, L. Y., González, J. C., & Salvatierra, A. I. (2011). Preferencias y disposición a pagar por uva de mesa orgánica en la Región del Maule, Chile. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33 N°3(Septiembre 2011), 784–790. <http://doi.org/10.1590/S0100-29452011000300012>
- Domingos-Lopes, M. F. P., Stanton, C., Ross, P. R., Dapkevicius, M. L. E., & Silva, C. C. G. (2017). Genetic diversity, safety and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Pico cheese. *Food Microbiology*, 63, 178–190. <http://doi.org/10.1016/j.fm.2016.11.014>
- Drouault, S., Corthier, G., Drouault, S., & Corthier, G. (2001). Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé To cite this version : HAL Id : hal-00902692 Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits.
- Fernandes, Â., Barreira, J. C. M., Barros, L., Mendonça, Á., Ferreira, I. C. F. R., & Ruivo de Sousa, F. (2018). Chemical and physicochemical changes in Serrana goat cheese submitted to extra-long ripening periods. *LWT - Food Science and Technology*, 87, 33–39. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.071>
- Ferrell, O. C., & Hartline, M. D. (2006). *Estrategia de Marketing*. Retrieved from <http://books.google.com/books?id=02TcdnCCaKwC&pgis=1>
- González, L., Sacristán, N., Arenas, R., Fresno, J. M., & Eugenia Tornadijo, M. (2010). Enzymatic activity of lactic acid bacteria (with antimicrobial properties) isolated from a traditional Spanish cheese. *Food Microbiology*, 27(5), 592–597. <http://doi.org/10.1016/j.fm.2010.01.004>
- EuroFIR (2007) Food-CT-2005-513944. EU 6th Framework Food Quality and Safety Programme. <http://www.eurofir.net>
- Gellynck, X., & Kühne, B. (2008). Innovation and collaboration in traditional food chain networks. *Journal on Chain and Network Science*, 8(2), 121–129.

<http://doi.org/10.3920/JCNS2008.x094>

- González-Olivares, L.G.; Jiménez-Guzmán, J.; Cruz-Guerrero, A.; Rodríguez-Serrano, G.; Gómez- Ruiz, L.; García-Garibay, M. (2011). Liberación de Péptidos Bioativos por Bacterias Lácticas en Leches Fermentadas Comerciales.
- González-Córdova, A. F., Torres-Llanez M. de J., Vallejo-Córdoba B., 2005. Péptidos Bioactivos derivados de las proteínas de la leche.
- 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. <http://doi.org/10.3168/jds.2015-10103>
- Guerrero, L., Guàrdia, M. D., Xicola, J., Verbeke, W., Vanhonacker, F., Zakowska-Biemans, S., ... Hersleth, M. (2008). Consumer-driven definition of traditional food products and innovation in traditional foods. A qualitative cross-cultural study. *Appetite*, 52(2), 345–354. <http://doi.org/10.1016/j.appet.2008.11.008>
- Hernández Girón, J., & Domínguez Hernández, M., & Caballero Caballero, M. (2007). Factores de innovación en negocios de artesanía de México. *Gestión y Política Pública. Redalyc*, XVI, 353–379.
- Korhonen, H., & Pihlanto, A. (2003). Food-derived Bioactive Peptides - Opportunities for Designing Future Foods. *Current Pharmaceutical Design*, 9(16), 1297–1308. <http://doi.org/10.2174/1381612033454892>
- Kotler, P., & Armstrong, G. (2008). *Fundamentos de Marketing*. Prentice Hall. <http://doi.org/978-9702604006>
- Kristbergsson, Kristberg; Oliveira, J. (2016). Traditional Foods: General and Consumer Aspects. <http://doi.org/10.1007/978-1-4899-7648-2>
- Lacaze, V., & Lupín, B. (2007). La aplicación del Método de Valuación Contingente a la estimación de la disposición a pagar por alimentos diferenciados. Caso de estudio: El pollo fresco orgánico, 30. Retrieved from <http://nulan.mdp.edu.ar/1292/>
- Licitra, G. (2010). World wide traditional cheeses: Banned for business? *Dairy Science & Technology*, 90(4), 357–374. <http://doi.org/10.1051/dst/2010016>
- López-Expósito I., Amigo L. y Recio I. 2012. A mini-review on health and nutritional aspects of cheese with a focus on bioactive peptides. *Dairy Science and Technology*. 92: 419-438.
- López A. R. (2013). Caracterización socio-técnica del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas. Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México
- Lorenzo Blanco R. (2015). Péptidos Lácteos. Tesis. *Universidad de Santiago de Compostela*.

- Luis, J., & Villanueva, J. (2018). en carne de bovino Contingent valuation and willingness to pay for credence attributes in beef meat *Introducción*, 9, 14–31.
- Mazoyer, E., Lévy-Toledano, S., Rendu, F., Hermant, L., Lu, H., Fiat, A. M., Jollès, P. y Caen, J. (1990). KRDS, a new peptide derived from human lactotransferrin, inhibits platelet aggregation and release reaction. *Eur. J. Biochem.*
- Meira, S. M. M., Daroit, D. J., Helfer, V. E., Corrêa, A. P. F., Segalin, J., Carro, S., & Brandelli, A. (2012). Bioactive peptides in water-soluble extracts of ovine cheeses from Southern Brazil and Uruguay. *Food Research International*, 48(1), 322–329. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.009>
- Möller, N. P., Scholz-Ahrens, K. E., Roos, N., & Schrezenmeir, J. (2008). Bioactive peptides and proteins from foods: Indication for health effects. *European Journal of Nutrition*, 47(4), 171–182. <http://doi.org/10.1007/s00394-008-0710-2>.
- Montoro, R. F.J. & Castañeda G. J. A., (2005). Determinantes de la disposición a pagar un sobreprecio por los productos ecológicos de agricultura ecológica, (January).
- OCDE y Eurostat. 2006. Manual Oslo. Guía para la recogida e interpretación de datos sobre innovación. 3ra ed. Traducción española: Grupo Tragsa, Empresa de Transformación Agraria, S.A. Zamorano O. J.
- Parra, H.R. (2010). Review. Bacterias ácido lácticas: papel funcional en los alimentos. *Facultad de Ciencias agropecuarias*. 8(1): 93-105
- Parés I Farrás R. & Juaréz Giménez A. (1997). *Bioquímica de los microorganismos*. Editorial REVERTÉ. Barcelona-España.
- Quirós, A. 2007. Leches fermentadas con actividad antihipertensiva: Identificación de péptidos y evaluación de su biodisponibilidad. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Madrid.
- Ruiz Ruiz, J., Segura Campos, M., Betancur Ancona, D., & Chel Guerrero, L. (2013). Bioactividad de péptidos derivados de proteínas. *Omnia Science*. 11-27
- Settanni, L., & Moschetti, G. (2014). New trends in technology and identity of traditional dairy and fermented meat production processes: Preservation of typicality and hygiene. *Trends in Food Science and Technology*, 37(1), 51–58. <http://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.02.006>
- Skeggs, L. T., Kahan, J. E. y Sumway, N. P. (1956). The preparation and function of the angiotensin-converting enzyme. *J. Exp. Med.*, 103, 295-299.
- Settanni, L., & Moschetti, G. (2014). New trends in technology and identity of traditional dairy and fermented meat production processes: Preservation of typicality and hygiene. *Trends in Food Science and Technology*, 37(1), 51–58. <http://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.02.006>

- Trichopoulou A., Vasilopoulou E., Georga K., Soukara S and Dilis V., (2006), Traditional foods: Why and how to sustain them. *Trends in food Science and Technology* 17, 498-504.
- Van den Heuvel, F. P., de Langen, P. W., van Donselaar, K. H., & Fransoo, J. C. (2011). Identification of Employment Concentration and Specialization Areas : Theory and Application. *Beta Working Paper*, 354(August), 26p. <http://doi.org/10.1002/agr>
- Villegas de Gante, A.; Cervantes Escoto F.; Cesín Vargas, A.; Espinoza Ortega, A. ., & Hernández Montes, A.; Santos Moreno, A.; Martínez Campos, R. (2014). *Atlas de los quesos mexicanos genuinos*. (C. de Postgraduados., Ed.) (1a Edición). Texcoo. Edo. de México.
- Villegas G. A. Z., Santos M. A. y Cervantes E. F., (2016). Los quesos mexicanos tradicionales. 1ª. Edición. Universidad Autónoma Chapingo. 197 p

3. DETERMINACIÓN DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS EN QUESO BOLA DE OCOSINGO, CHIAPAS †

RESUMEN

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son el grupo más importante de microorganismos presentes en la leche y en productos lácteos. Desempeñan un papel importante en los procesos de fermentación; son utilizadas en la industria alimentaria, no solamente por su habilidad por acidificar y por lo tanto preservar alimentos, sino también en su implicación en la textura, sabor, olor y desarrollo de aroma de alimentos fermentados. En los quesos tienen consecuencias benéficas para el alimento, son tradicionalmente empleadas en los diferentes productos lácteos debido a sus propiedades tecnológicas y funcionales (cultivos lácticos, probióticos, etc). Por ello ha cobrado importancia cuantificar, aislar y caracterizar las BAL presentes en los quesos tradicionales mexicanos, como es el caso del queso Poro de Balancán, Tabasco y el queso Cotija de Michoacán, que coinciden en estar constituidos principalmente por bacterias de los géneros *Lactobacillos* y *Pediococcus*, con la finalidad de utilizarlos como cultivos iniciadores. El objetivo de este trabajo fue cuantificar las BAL en el Queso Bola elaborado a partir de leche cruda, con la finalidad de conocer la carga microbiana de las mismas en tres tiempos de maduración del queso (5, 21 y 40 días). En el Queso Bola se han reportado estudios socioeconómicos y calidad sanitaria; sin embargo, se carece de información que sustente la cuenta de BAL en este queso. La cuenta fue realizada en Placas Petrifilm™ Bacterias Ácido Lácticas incubadas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 48 h. Los resultados sugieren que conforme avanza el nivel de maduración disminuye la concentración de las BAL. Laltic fue la quosería significativamente superior ($p\leq 0.05$) en la cuenta de las BAL en los tres tiempos de maduración.

Palabras clave: *queso artesanal, bacterias ácido lácticas, maduración*

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

Autor: Ing. Melbys López López

Director de Tesis: Dr. Anastacio Espejel García

DETERMINATION OF LACTIC ACID BACTERIA IN BOLA CHEESE FROM OCOSINGO, CHIAPAS

ABSTRACT

Lactic acid bacteria (LAB) are the most important group of microorganisms present in milk and dairy products. They play an important role in the fermentation processes; they are used in the food industry, not only for their ability to acidify and therefore preserve food, but also in their involvement in the texture, flavor, smell and aroma development of fermented foods. In cheeses have beneficial consequences for food; they are traditionally used in different dairy products due to their technological and functional properties (lactic cultures, probiotics, etc). Therefore, it has become important to quantify, isolate and characterize the LAB that are present in traditional Mexican cheeses, such as the Poro cheese from Balancán, Tabasco and the Cotija cheese from Michoacán, which coincide in being constituted mainly by bacteria of the genera *Lactobacillos* and *Pediococcus* with the purpose of using them as starter cultures. The objective of this written was to quantify the LAB in Bola cheese made from raw milk, with the purpose of knowing the microbial load of the cheese in three times of ripening cheese's (5, 21 and 40 days). In the Bola Cheese, socioeconomic studies and health quality have been reported; however, there is a lack of information to support the LAB account in this cheese. The count was done on Petrifilm™ Lactic Acid Bacteria plates incubated at 35 ± 2 ° C for 48 h. The results suggest that as the level of ripening progresses, the LAB concentration decreases. Laltic was the dairy significantly higher ($p \leq 0.05$) in the LAB account in the three ripening times.

Keywords: *artesanal cheese, acid lactic bacterias, ripening*

Thesis: Universidad Autónoma Chapingo

Author: Ing. Melbys López López

Advisor: Dr. Anastacio Espejel García

3.1. Introducción

En México existe una gran diversidad de quesos tradicionales denominados también artesanales, que para un estrato de la población representan más que un alimento, es decir son valorados por aspectos intangibles; estos quesos están fuertemente vinculados a su lugar de origen y son un testimonio de la historia, la cultura de las comunidades que los producen y *saber-hacer*; además, se elaboran en su mayoría con leche cruda de vaca, cabra u oveja, y con el empleo mínimo de aditivos: cuajo, sal y eventualmente cloruro de calcio (Licitra, 2010). Actualmente se conocen cerca de 40 diferentes tipos de quesos mexicanos genuinos artesanales y dentro de este grupo pertenece el Queso Bola de Ocosingo, Chiapas, un queso emblemático de producción limitada, exclusivo de esta región chiapaneca y valorado por su atractiva apariencia y su calidad sensorial inigualable; sin embargo, la NOM-243-SSA1-2010, NOM-251-SSA1-2009, NOM-051-SCFI-SSA1-2010, NMX-F-713-COFOCALEC-2005 y la Secretaría de Salud, establecen requisitos sobre la calidad del proceso de producción de queso y la calidad necesaria para comercializar el producto, lo cual limita la distribución y difusión adecuada de estos productos elaborados a partir de leche cruda.

Un alimento tradicional es un producto que ha sido comercializado dentro del mercado comunitario por al menos un periodo igual al de una generación humana (25 años); además representa los hábitos y aspectos culturales de los pobladores de la región de origen y normalmente es transmitido de generación en generación, elaborado con esmero y dedicación, con poco o nada de procesamiento, diferenciado y conocido por sus propiedades sensoriales, asociado con el lugar y los recursos naturales específicos propios de la región donde se producen (EU, 2006; Guerrero, Guardia *et al.*, 2008). El Queso Bola es un producto tradicional mexicano desde 1927, exclusivo del municipio de Ocosingo, Chiapas, complejo y original, formado por dos estructuras derivadas de leche cruda: un núcleo, que es un queso doble crema y madurado varios días a temperatura ambiente y una parte externa o forro, también de queso, al punto

de quesillo, hecha con leche totalmente descremada, la cual se deshidrata en varias horas y se convierte en un material duro, a la manera de un empaque rústico. De tal forma que es un queso con características únicas y propias; por su hechura y calidad sensorial, asociada a condiciones geográficas y climáticas (Cervantes, Villegas, Cesín & Espinoza, 2006; Villegas, Santos & Cervantes, 2016).

Al igual que la mayoría de los quesos artesanales de México, el Queso Bola de Ocosingo se elabora con leche cruda de tal forma que las bacterias ácido-lácticas (BAL) son parte esencial de su microflora nativa. El desarrollo de las BAL en la leche y su actividad en los quesos tienen consecuencias benéficas: la fermentación de la lactosa a ácido láctico que acidifica el medio, junto con la proteólisis de las caseínas, provoca la coagulación de la leche y la sinéresis de la cuajada (Ortiz, 2006). Las BAL son un conjunto de bacterias benéficas, siendo los géneros más representativos en la industria láctea: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* y *Pediococcus*, que mejoran las características sensoriales como el sabor, olor, textura y aumentan la calidad nutritiva de alimentos como la leche. Sus principales propiedades metabólicas incluyen la fermentación de carbohidratos y, en menor grado, la degradación de proteínas y grasas presentes en la materia prima (Georgalaki *et al.*, 2017; Ramírez *et al.*, 2011).

Tradicionalmente empleadas en los diferentes productos lácteos debido a sus propiedades tecnológicas y funcionales; por ello ha cobrado relevante importancia cuantificar, aislar y caracterizar las BAL en quesos tradicionales mexicanos, como es el caso del queso Poro de Balancán, Tabasco, queso crema Tropical de la Chontalpa, Tabasco, el queso Cotija de Michoacán que coinciden en estar constituidos principalmente por bacterias de los géneros *Lactobacillos* y *Pediococcus* (Flores, 2012; Jiménez-Vera *et al.* 2010; Epigmenio y Hernández, 2016) con la finalidad de utilizarlos como cultivos iniciadores. Por otro lado, la calidad microbiológica del queso tradicional Cincho de Morelos, ha sido estudiado

incluyendo las BAL, cuyos hallazgos mostraron que a mayor tiempo de maduración la carga microbiana patógena disminuye (Castro-Castillo, 2013).

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue cuantificar la carga microbiana de BAL en el Queso Bola de Ocosingo, Chiapas durante el proceso de maduración, en 5, 21 y 40 días, el control y manejo de la maduración del queso estuvo a cargo de los maestros queseros seleccionados (Laltic, Queshil y El Dorado).

3.2. Materiales y métodos

3.2.1. Objeto de estudio

Se emplearon muestras de Queso Bola de Ocosingo, Chiapas elaborados a base de leche cruda de vaca de la forma tradicional y artesanal en el municipio de Ocosingo. Los quesos fueron obtenidos de tres queserías del Queso Bola en Ocosingo: “Queshil”, “El Dorado” y “Laltic”. Se seleccionaron estas queserías por el tiempo (> 50, 35 y 3 años respectivamente) que llevan elaborando el Queso Bola y principalmente por las facilidades prestadas para llevar a cabo la investigación.

3.2.2. Preparación de muestra

Con el objetivo de disminuir la variabilidad y mantener mayor homogeneidad en el material experimental, se le indicó a cada productor elaborar los quesos de un mismo lote de leche, llevando ellos mismos el control y manejo del tiempo de maduración del núcleo del Queso Bola: 5 días, 21 días y 40 días.

Los quesos muestreados fueron piezas de 700 g por cuadruplicado para cada quesería a: los 5, 21 y los 40 días de maduración, respectivamente. Enseguida los quesos fueron enviados a la Universidad Autónoma Chapingo, a temperatura ambiente, para su análisis.

3.2.3. Determinación de bacterias ácido lácticas (BAL)

Dentro de una Cabina de Bioseguridad (LABCONCO, 344001, Clase II), las muestras se tomaron de manera aséptica del núcleo del queso y se pesaron 25 g de la muestra en bolsas plásticas de Ziploc® estériles, adicionando 225 mL de agua Peptonada al 0.1% (DIBICO, México), se homogeneizó durante 2 minutos en el Stomacher® (Seward, 400 Circulator) y se realizaron 8 diluciones de 10^{-1} a 10^{-8} , se sembraron a partir de las diluciones 10^{-5} en Placas 3M™ Petrifilm™ para Recuento Bacterias Ácido Lácticas por duplicado y se incubaron a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 48 ± 3 horas (Incubadora: Riossa, E-82D). Una vez cumplido el tiempo de

incubación se tomó lectura del crecimiento en las placas, se hizo el recuento y se reportó en logaritmo base 10 del número de unidades formadoras de colonias por gramo (\log_{10} UFC.g⁻¹).

Posteriormente se tomaron dos colonias de las Placas Petrifilm™ de cada muestra de queso para resembrar en Agar cuenta estándar (DIFCO™) e incubarlos a 35±2 °C durante 48±3 horas y finalmente se realizaron las pruebas auxiliares: tinción de Gram para determinar características de Gram positivas de las BAL realizándose observaciones al microscopio (Labomed, Digiplus CRX11), prueba de catalasa y la prueba de oxidasa.

3.2.4. Análisis químico proximal y minerales

Se tomaron muestras del centro del queso y se rayaron 100 g aproximadamente de cada uno de los quesos, haciéndose por triplicado, utilizando el analizador de lácteos FoodScan™ (FOSS Analytical AB, Suecia), para determinar: % proteína, % grasa, % humedad, % sólidos totales, % sal. El contenido de minerales se calculó mediante la sustracción de sólidos totales del contenido de proteína y grasa.

Las determinaciones de pH en los quesos se realizaron con un potenciómetro con electrodo de superficie (Hanna Instruments), calibrado con una solución buffer de pH 7.0 (J.T. Baker, México) y otra a pH 4.0 (J.T. Baker, México).

3.2.5. Análisis estadístico

El diseño de los tratamientos se fundamentó en el factor queso (tres niveles) y las variables respuesta fueron: Cuenta total de BAL (\log_{10} g⁻¹), pH y composición de los quesos: Humedad, Proteína, Grasa, Sal y Minerales (% base seca). El análisis se realizó bajo un Modelo MIXTO con medidas repetidas usando una estructura unifactorial de los tratamientos (quesos) y un esquema de aleatorización completamente al azar con tres repeticiones en el tiempo de maduración (5, 21 y 40 días). Tal que se ensayaron 9 tratamientos con tres repeticiones. Generando 27 unidades experimentales.

Para la definición de estructura de varianzas se utilizó el método RELM (estimación por máxima verosimilitud restringida) y como criterio de información para elegir la estructura de la varianza más apropiada se usó el criterio de información bayesiano de Schwarz (BIC). El modelo mixto expresa lo siguiente (Cadena & Castillo, 2002; Correa, 2004):

$$Y = X\beta + U\xi + \varepsilon$$

Sujeto a:

$$E \begin{bmatrix} \xi \\ \varepsilon \end{bmatrix} = \mathbf{0}; \text{Var} \begin{bmatrix} \xi \\ \varepsilon \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{G} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{R} \end{bmatrix} \quad \begin{array}{l} \text{Dónde: } R = \delta^2 I_n \\ \text{Var}(Y) = UGU^T + R \end{array}$$

Donde:

Y = es un vector ($n \times 1$) de observaciones.

β = es un vector ($s \times 1$) de parámetros desconocidos de efectos fijos.

X = es una matriz ($n \times s$) conocida, usualmente denominada matriz diseño de efectos fijos.

ξ = es un vector ($t \times 1$) de efectos aleatorios, es de la forma $\xi' = [\xi'_1, \xi'_2, \dots, \xi'_c]$ con ξ_i de orden t_i y $t_1 + t_2 + \dots + t_c = t$ y $\xi' = (0, \sigma_e^2 I_n)$ con $\text{cov}(\xi_i, \xi_{i'}) = 0$ para $i \neq i'$.

$U = [U_1, U_2, \dots, U_c]$ Es una matriz ($n \times t$) de incidencias, conocida, con U_i de dimensiones $n \times t_i$, denominada matriz diseño de efectos aleatorios para estudios longitudinales.

$\varepsilon \sim (0, \sigma_e^2 I_n)$ es el vector ($n \times 1$) de términos de error aleatorios.

Para identificar diferencias significativas se realizaron comparaciones de medias con la prueba Tukey-Kramer con un nivel de significancia de 0.05, mediante el Paquete Estadístico SAS 9.0 (SAS, Institute Inc; Cary, NC, U.S.A).

3.3. Resultados y discusión

3.3.1. Caracterización del proceso de elaboración del Queso Bola de Ocosingo

El Queso Bola, posee características especiales, que le dan al queso un sabor particular que lo diferencian de otros quesos, derivado de un proceso artesanal con condiciones agroecológicas específicas. Solo lo fabrican unos cuantos queseros artesanales cuyo conocimiento tecnológico se basa en un saber hacer tradicional que ha pasado por tradición y práctica de generación en generación (Cervantes *et al.*, 2006). En la actualidad existen nueve productores del Queso Bola, algunos de ellos, integrados, tienen ranchos donde ordeñan y producen el queso, otros compran la leche para su procesamiento (Pomeón, 2011; López, 2013).

En el 2004 se creó la Sociedad Agropecuaria e Industrial Quesera de Ocosingo S.P.R de R.I (SAIQUO) con la finalidad de mejorar la difusión de este queso y brindar soporte a las queserías agremiadas en su desarrollo y comercialización. En el año 2005, el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI) otorgó a la Sociedad la Marca Colectiva (MC), cuyas Reglas de Uso, se declaran que la leche utilizada para la elaboración del queso debe ser de la región y las características básicas para el queso (peso, forma, composición). El desarrollo de las marcas colectivas en México está más influenciado por las instituciones involucradas que por los mismos productores dueños de la marca y del saber hacer de productores como el Queso Bola, esto limita el fortalecimiento de la organización considerando que no se tiene claridad en el objetivo de la marca colectiva de tal forma que actualmente la vigencia de la MC esta caduca, debido a que los productores no lograron organizarse para refrendar la vigencia.

Las agroindustrias del Queso Bola son de escala pequeña, procesan en promedio 300 L/día, la tecnología es rústica, pero adecuada para la producción del queso, el cual se produce con leche cruda, sin adición de leche en polvo u otros sustitutos, lo que representa una ventaja comparativa. El gramaje del queso

es de 700 g, la cantidad aproximada de leche requerida en promedio es 8 L (para el núcleo) y se elabora en dos etapas: la primera consiste en la elaboración de la pasta del centro o núcleo, mediante cuajado mixto (ácido-enzimático), siendo un queso doble crema con 21 días de maduración antes de ser forrado (450-500 g). La segunda etapa es la elaboración del forro, elaborado con pasta tipo quesillo (200-250g) a partir de leche descremada que cubrirá con una doble capa al núcleo (López, 2013).

De las agroindustrias seleccionadas, la de mayor tiempo de antigüedad es Laltic con más a 50 años de antigüedad, seguida de Queshil de aproximadamente 35 años y por último El Dorado con aproximadamente 3 años de antigüedad; sin embargo, a pesar de diferir en el tiempo de producir el Queso Bola, las tres coinciden en que su mercado principal es la Ciudad de México; es decir, no es un producto de mercado local ni regional.

3.3.1.1. Recepción de la leche

El proceso de elaboración de este queso inicia con la recepción de la leche, la cual se recibe de los ranchos, proveniente de vacas criollas mezcladas con cebú y pardo suizo. La quesería “Laltic” es la única que cuenta con producción de leche propia, en comparación con las queserías: “El Dorado” y “Queshil”, quienes tienen distintos proveedores de leche. La forma de asociación de los proveedores con las queserías se basa en la confianza y cooperación ya que no existe ningún tipo de contrato formal; pese a ello, ninguna de las queserías realiza control de calidad de la leche para verificarla, pues se parte de la confianza de que el ganadero entrega un producto de buena calidad.

3.3.1.2. Elaboración del Queso Bola

Para elaborar el núcleo, se adiciona cuatro litros de crema por cada 100 litros de leche antes de cuajar, una vez formada la cuajada se deja reposar durante 24 horas aproximadamente. Después es cortado y en bolsas de rafia o manta se levanta la cuajada y se cuelga por 3-4 horas para su desuerado, posteriormente

se le adiciona sal (3-4%), se amasa y se vuelve a colgar por 24 horas. Después de las 24 horas se da un segundo amasado manual para distribuirla uniformemente. La cuajada se vuelve amarrar y a colgar en la bolsa para que la pasta siga desuerando. Al tercer día se descuelga y se desamarrar la bolsa, amasando, extendiendo y juntando la masa nuevamente, luego se distribuye en una manta limpia y se vuelve a colgar. Esta operación se repite hasta el término de la maduración (21 días, de acuerdo con las Reglas de Uso de la MC). Una vez finalizado el tiempo de maduración, la cuajada se amasa y se moldea a mano para hacer las bolas de queso. A las bolas de cuajada se les coloca un forro de queso de pasta hilada (totalmente descremado), el queso con el primer forro se deja orear por 24 horas, después, al queso se le agrega un segundo forrado que se deja orear por 3-4 horas. Por último, a las bolas se les pone la etiqueta correspondiente (López, 2013; IA-UACH, 2014).

3.3.2. Bacterias ácido lácticas del Queso Bola

Los alimentos fermentados tradicionales, como el queso, son ecosistemas microbianos complejos, representados principalmente por bacterias ácido lácticas (BAL) y levaduras, cuya fermentación dan lugar a características importantes como: palatabilidad, alta calidad sensorial, estructura y textura, cualidades nutritivas, saludables y propiedades probióticas (cuando están en forma viva en el momento del consumo) (Settanni & Moschetti, 2014). Sin embargo, una de las restricciones en México es imposibilidad de comercializar de manera libre quesos a partir de leche cruda, debido a la falta de conocimientos del tipo de flora microbiana que poseen estos productos tradicionales, estudios diversos sobre la microbiota de quesos artesanales indican que este tipo de productos cumplen con las normas para bacterias patógenas e incluso la flora bacteriana benéfica (BAL) es mayor que en cualquier otro queso comercial. Un estudio realizado por López (2013) en el Queso Bola, no encontró *E. coli* en las muestras analizadas y esto coincide con Escobar *et al.* (2012) quienes estudiaron la calidad microbiológica del Queso Bola durante tres tiempos de maduración (50, 80 y 110 días) y concluyeron que las poblaciones de todos los grupos

microbiológicos evaluados del queso Bola fueron disminuyendo durante la maduración, siendo así los resultados de coliformes y *E. coli* <3 NMP g^{-1} . Además, no se detectó la presencia de *L. monocytogenes*, *S. aureus* y *Salmonella* en ninguna muestra evaluada a pesar de ser un queso elaborado con leche cruda, cumple con la norma NOM-243-SSA1-2010, ya que ésta especifica un límite máximo de 10 NMP g^{-1} para *E. coli* y la ausencia de microorganismos patógenos para quesos madurados.

Se han realizado estudios en otros quesos tradicionales mexicanos, tales como el Chihuahua (Chihuahua) y el de Cincho (Morelos), en ambos se encontró la presencia de grupos microbianos no deseados como coliformes, *Staphylococcus* y levaduras, sugiriendo con ello baja calidad; sin embargo también se encontraron microorganismos benéficos del grupo de las BAL, valorados por sus propiedades antimicrobianas contra la flora patógena principalmente en el queso de Cincho madurado por 30 días, ya que se demostró que a mayor tiempo de maduración la carga microbiana no benéfica disminuyó. Por otra parte, el estudio en queso Chihuahua se realizó con quesos de leche pasteurizada y leche cruda, resultando que la pasteurización por sí sola no es una herramienta que garantice la inocuidad del queso, ya que ambos estudios mostraron la presencia de microorganismos no deseables, por lo que sería necesario supervisar e implementar buenas prácticas de higiene y manufactura en todo el proceso de elaboración del queso y así evitar contaminación post-pasteurización en el producto (Castro-Castillo, 2013).

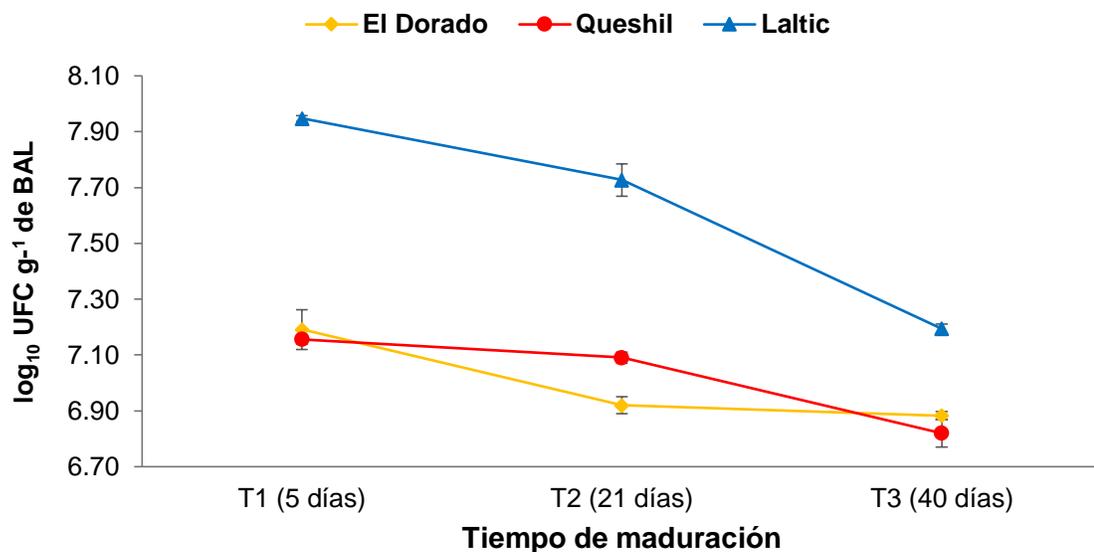
Las BAL son el grupo más importante de microorganismos presentes en la leche y en productos lácteos. Desempeñan un papel importante en los procesos de fermentación; son utilizadas en la industria alimentaria, no solamente por su habilidad por acidificar y por lo tanto preservar alimentos, sino también en su implicación en la textura, sabor, olor y desarrollo de aroma de alimentos fermentados (Parra, 2010; Kongo y Malcata; 2016). El crecimiento de estos microorganismos está controlado por factores fisicoquímicos como actividad del agua (a_w), concentración de la sal, pH, ácidos orgánicos, temperatura de

maduración, potencial de óxido reducción y presencia de nitratos, entre otros (Beresford *et al.*, 2001). Por ello, se ha retomado la importancia de estudiar la presencia de las BAL en quesos artesanales mexicanos, pues con frecuencia se aíslan para utilizarlos como cultivos iniciadores e intentar obtener quesos parecidos a los artesanales.

Ramos-Izquierdo *et al.* (2006) estudiaron el queso Crema Tropical con el fin de aislar, identificar y caracterizar un cultivo láctico con BAL autóctonas (cinco especies de *Lactobacillus fermentum* y una de *Lactobacillus pentosus*), las cuales fueron inoculadas en leche pasteurizada para obtener un producto de perfil del queso deseado. En el año 2012, Flores determinó la caracterización de la microbiota asociada al queso Cotija con la finalidad de obtener información sobre su inocuidad, condiciones adecuadas de elaboración y microorganismos involucrados en la impartición organoléptica en este producto. A partir del queso Cotija artesanal fue posible obtener cepas de BAL (*Lactobacillus* principalmente) apropiadas para su utilización como cultivos iniciadores, para mejorar las características organolépticas de un queso elaborado con leche pasteurizada. El queso de Poro de los Ríos en el estado de Tabasco, es un queso artesanal que se ha estudiado para aislar BAL (*Lactobacillus* y *Enterococcus*) específicas para posteriormente usarlo como probióticos y como cultivos iniciadores en la producción de quesos de leche pasteurizada (Jiménez-Vera *et al.* 2010; Epigmenio y Hernández, 2016).

La diversidad y dinámica de las comunidades microbianas asociadas con este tipo de productos artesanales se asocia con diversos factores, tales como la alimentación del ganado y la composición de la leche; la forma tradicional de elaboración del queso y el entorno de producción y, por lo tanto, pueden afectar las características organolépticas del producto final. La calidad microbiológica de estos quesos está determinada por las actividades metabólicas de las BAL que dominan durante la maduración del queso, por lo que es importante determinar el crecimiento de ellas durante el proceso de maduración, como es el caso del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas (Van *et al.*, 2008).

La Figura 3.3.1 muestra el crecimiento de las BAL durante el proceso de maduración del Queso Bola que disminuye en un 3% del día 5 al día 21 y un 7% del día 5 al último día muestreado. La tendencia en la disminución de las BAL en las tres marcas de queso es similar, la concentración de las BAL disminuyeron durante el proceso de maduración de 5, 21 y 40 días, Esto se relaciona con las condiciones del queso como las diferencias de humedad y pH durante el tiempo de maduración (Ramírez, Ulloa, Velázquez, Ulloa, & Arce, 2011).



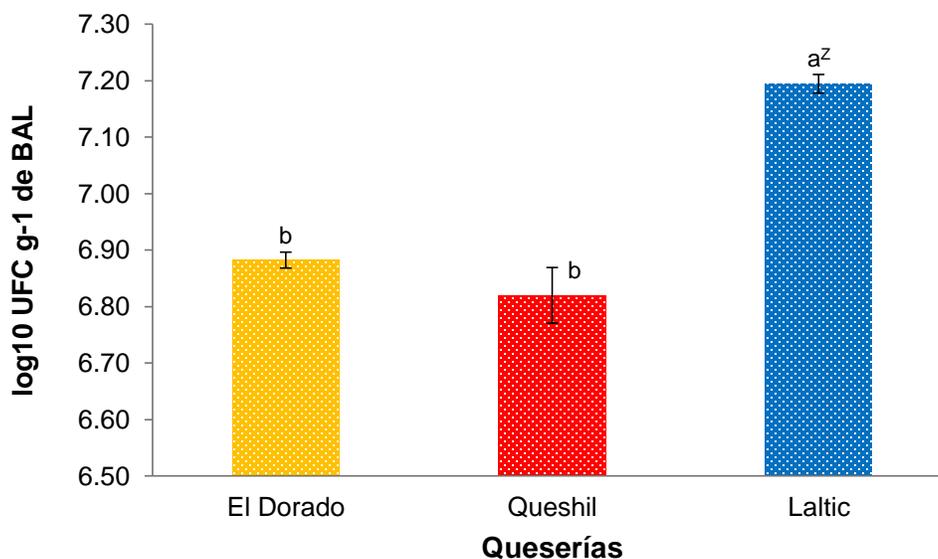
Fuente: elaboración propia con datos generados, 2017.

Figura 3.3.1. Crecimiento de las BAL en Queso Bola de Ocosingo, Chiapas durante el proceso de maduración (T1: 5 días, T2: 21 días y T3: 40 días).

Al final del proceso de maduración en los quesos investigados, las BAL muestran una tendencia a disminuir; sin embargo, Laltic es la marca con mayor concentración. Este comportamiento se puede atribuir a que ellos cuentan con su propia producción de leche, teniendo así mayor control en cuanto a la calidad de esta, comparado a las otras queserías que compran la leche a distintos

proveedores, confiriendo mayor variabilidad, tanto en su composición como en la calidad microbiana.

El comportamiento de las BAL en el último tiempo evaluado (40 días) se muestra en la Figura 3.3.2 con diferencias significativas ($p \leq 0.05$), donde la concentración de BAL en queso marca Laltic es estadísticamente superior a aquella de las otras dos marcas investigadas. Se puede imputar al origen y manejo de la materia prima empleada, al manejo de la cuajada y del queso durante su elaboración, esta parte de manipulación del queso está relacionado directamente con el saber hacer de los maestros queseros y es la parte importante de la riqueza de este tipo de productos, pues esto le confiere características específicas.



^zTratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha \leq 0.05$).
Fuente: elaboración propia con datos generados, 2017.

Figura 3.3.2. Bacterias ácido lácticas en el Queso Bola, a los 40 días de maduración (T3).

De acuerdo con la NMX-F444-1983, la concentración de las BAL en el yogurt debe ser como mínimo $\log_{10} 6.30 \text{ UFC g}^{-1}$ y comparando con los quesos analizados, se encontró que, durante el último tiempo de maduración evaluado, las BAL se encuentran por arriba de lo que exige la norma para yogurt. Ello, permite suponer que, en estos quesos, se encuentra una riqueza de bacterias lácticas.

El desarrollo de las BAL obtenido es similar a los resultados reportados por Hernández (2014), quien realizó la detección de BAL en la corteza del queso Cotija en diferentes tiempo de maduración, donde a los 15 días tuvo una cuenta de BAL de 8.73, 9.21 y 7.99 $\text{Log}_{10} \text{ UFC/g}$, a los 30 días reportó una disminución de entre 7.69 y 8.55 $\text{Log}_{10} \text{ UFC/g}$ y por último de los 45 a 90 días de maduración se incrementó ligeramente la cuenta de estas bacterias con valores entre 8.24 y 8.67 $\text{Log}_{10} \text{ UFC/g}$. La proliferación de las BAL está correlacionada con el a_w del queso, el pH, el contenido de NaCl.

Las BAL poseen actividades proteolíticas y lipolíticas, especialmente durante la maduración de los quesos, producen también varios compuestos antimicrobianos los cuales inhiben en parte, el desarrollo de flora contaminante y patógena. Aseguran la calidad y uniformidad del producto final (Parra, 2010). Lo que concuerda con los estudios realizados por Escobar *et al* (2012) y López (2013), quienes obtuvieron resultados favorables al no encontrar microorganismos patógenos presentes en el Queso Bola y podría atribuirse al desarrollo de las BAL durante el proceso de maduración.

Las BAL son un grupo de microorganismos representados por varios géneros con características morfológicas, fisiológicas y metabólicas en común. Son cocos o bacilos Gram positivos, no esporulados, no móviles, anaeróbicos, microaerófilicos o aerotolerantes (Parra, 2010). Son oxidasa, catalasa y benzidina negativas, carecen de citocromos, no reducen el nitrato a nitrito y producen ácido láctico como el único o principal producto de la fermentación de carbohidratos (Ramírez *et al.*, 2011). En el Cuadro 3.3.1 se mencionan algunas características que se obtuvieron de las BAL en el queso Bola.

Cuadro 3.3.1. Características de bacterias ácido lácticas durante el tiempo de maduración en el Queso Bola de tres queserías de Ocosingo, Chiapas.

Quesería	Tiempo	Tinción Gram	Catalasa	Oxidasa	cocos	Bacilos
El Dorado	T1	Gram (+)	-	-	+	+
	T2	Gram (+)	-	-	+	+
	T3	Gram (+)	-	-	+	+
Queshil	T1	Gram (+)	-	-	+	+
	T2	Gram (+)	-	-	+	+
	T3	Gram (+)	-	-	+	+
Laltic	T1	Gram (+)	-	-	+	+
	T2	Gram (+)	-	-	+	+
	T3	Gram (+)	-	-	+	+
Control (+) Oxidasa: <i>Vibrio Cholerae O1</i>						
Control (+) Catalasa: <i>L. monocytogenes ATCC 19111</i>				T1: 5 días, T2: 21 días; T3: 40 días		

Fuente: elaboración propia con datos generados, 2017.

3.3.3. Análisis proximal y minerales del Queso Bola

López (2013) realizó el análisis composicional de Queso Bola en dos temporadas (estiaje y lluvias) obteniendo variabilidad en sus resultados dentro de cada temporada y entre temporadas. La quesería “Laltic” tiene más 50 años produciendo el queso (desde 1927), considerándose una de las queserías más emblemáticas y tradicionales del municipio y que ha pasado por tres generaciones, conservando sus características típicas del Queso Bola y mejor control en la calidad de su leche. Queshil es una quesería que tiene cerca de 35 años en la producción de Queso Bola, la variabilidad es mínima en su composición; mientras que la quesería “El Dorado” tiene tres años aproximadamente en la producción del Queso Bola, en el cual se encontró mayor variación en la composición del queso.

En el Cuadro 3.3.2 muestra los resultados que arrojó el equipo FoodScan™ de la composición de los quesos en base húmeda (%).

Cuadro 3.3.2. Composición (% base humedad) de las tres marcas del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas a distintos tiempos de maduración (T1: 5 días, T2: 21 días y 40 días).

QUESO	TIEMPO	HUMEDAD	PROTEÍNA	GRASA	SAL	ST	MINERALES
DORADO	T1	59.10	16.46	19.42	1.46	40.90	5.03
	T2	44.51	20.39	30.50	1.85	55.49	4.59
	T3	41.62	22.59	30.85	2.16	58.38	4.93
QUESHIL	T1	41.49	21.81	31.97	2.30	58.51	4.73
	T2	33.70	25.58	36.40	1.62	66.30	4.32
	T3	31.44	25.04	38.63	2.06	68.56	4.90
LALTIC	T1	47.04	16.94	31.87	2.14	52.96	4.15
	T2	39.33	22.01	34.91	1.46	60.67	3.76
	T3	37.72	22.75	33.87	2.57	62.28	5.65

Fuente: elaboración propia con datos generados, 2017.

Sin embargo, para fines prácticos y un mejor análisis de los datos sin interferencia de la humedad en la composición de los quesos, se ajustaron los datos en porcentaje en base seca. En el Cuadro 3.3.3, se muestra la composición promedio en porcentaje base seca (%BS)¹ de las tres marcas de Quesos Bola a distintos tiempos de maduración.

Para el contenido de humedad existen diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en las tres marcas de queso correspondiente a cada tiempo de maduración, siendo la marca El Dorado la de mayor porcentaje de humedad. En las tres marcas ocurre que, a mayor tiempo de maduración, la humedad disminuye.

$$1 \ ^1 \%BS = \frac{X * 100}{100 - \%Humedad}$$

Donde:

X=Parámetro de composición en base húmeda

Cuadro 3.3.3. Composición (% base seca) de las tres marcas del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas a distintos tiempos de maduración (T1: 5 días, T2: 21 días y 40 días).

	Tiempo	El Dorado	Queshil	Laltic
Humedad	T1	59.10 ± 0.40 a ^m x ⁿ	41.49 ± 0.03 cx	47.04 ± 0.19 bx
	T2	44.51 ± 0.15 ay	33.70 ± 0.28 cy	39.33 ± 0.05 by
	T3	41.62 ± 0.15 az	31.44 ± 0.28 cz	37.72 ± 0.38 bz
Proteína	T1	40.24 ± 0.47 ax	28.74 ± 0.21 cx	31.99 ± 0.43 bx
	T2	36.75 ± 0.15 ay	33.77 ± 0.81 by	36.28 ± 0.25 ay
	T3	38.70 ± 0.22 az	33.10 ± 0.21 cy	36.54 ± 0.22 by
Grasa	T1	47.48 ± 0.66 ax	54.64 ± 0.54 cx	60.19 ± 0.11bx
	T2	54.98 ± 0.08 ay	54.90 ± 0.37 ax	57.53 ± 0.00 by
	T3	52.85 ± 0.10 az	56.34 ± 0.11 cy	54.39 ± 0.47 bz
Sal	T1	3.57 ± 0.18 ax	3.93 ± 0.15 bx	4.03 ± 0.02 bx
	T2	3.34 ± 0.10 ax	2.45 ± 0.03 by	2.41 ± 0.08 by
	T3	3.70 ± 0.08 ax	3.00 ± 0.12 cz	4.12 ± 0.12 bx
Minerales	T1	12.29 ± 0.19 ax	8.08bx ± 0.48 bx	7.83 ± 0.36 bx
	T2	8.27 ± 0.10 ay	6.52by ± 0.14 by	6.19 ± 0.25 by
	T3	8.45 ± 0.12 ay	7.15bx ± 0.17 bx	9.07 ± 0.15 cz

^m Medias en filas con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, α=0.05).

ⁿ Medias en columnas con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, α=0.05).

Fuente: elaboración propia con datos generados, 2017.

De acuerdo con la composición promedio de cada queso en distintos tiempos de maduración, para el parámetro humedad existen diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en las tres marcas de queso correspondiente a cada tiempo de maduración, siendo la marca El Dorado la de mayor porcentaje de humedad. En las tres marcas ocurre que a mayor tiempo de maduración, la humedad disminuye. El efecto de pérdida de humedad durante el tiempo de maduración se atribuye que al provocar una disminución de la hidratación de las proteínas conduce a una mayor interacción de las mismas provocando el aumento de la firmeza de la matriz proteica y esto coincide con el contenido de proteína de los Quesos Bola a mayor tiempo de maduración. La sal además de tener un papel importante para el sabor y conservación del queso, en altas concentraciones aumenta la salida de agua presente en la red proteica del queso, ocasionando menor humedad y por lo tanto mayor dureza en el queso (Ramírez-López & Vélez-Ruíz, 2014).

El tiempo dos (T2), se considera como referencia porque corresponde al tiempo de maduración comercial del queso. El mayor contenido de proteína lo tuvo la marca El Dorado y Laltic, seguido por Queshil. El mayor contenido de grasa al tiempo 2 lo mostró Laltic y para el caso del contenido de sal y minerales al tiempo 2, la marca con mayor contenido fue el Dorado. La variabilidad entre quesos se atribuye, a que muchos de los queseros que elaboran el Queso Bola, no tienen estandarizado el proceso artesanal, obteniendo así una riqueza sensorial y composicional diferente entre productores e incluso entre quesos del mismo productor (Villegas *et al.*, 2013).

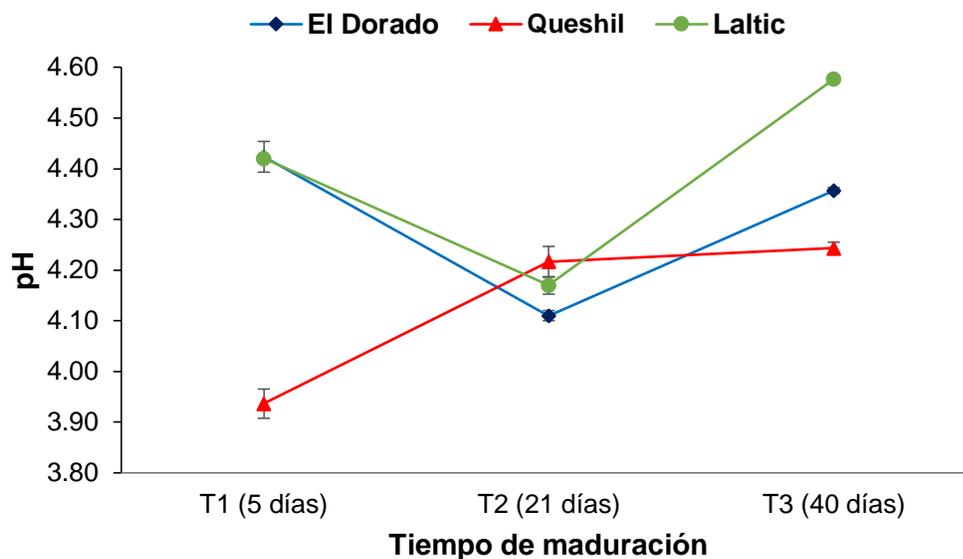
Las Reglas de uso de la Marca Colectiva del Queso Bola, especifican que la composición del queso en base húmeda debe contener: proteína 23-25 %; humedad 38-40 % y grasa 33-36 %, comparando los resultados obtenidos a los 21 días de maduración de los quesos, se encontró que los quesos de la marca Laltic cumplen con los parámetros de proteína y grasa, caso contrario en humedad. Mientras que los quesos Queshil y de El Dorado; no cumplieron con ninguna de las especificaciones.

3.3.4. pH

La textura es uno de los parámetros más importantes que debe considerarse para evaluar la aceptabilidad de un alimento para su consumo. La función del pH en la textura del queso es particularmente importante, ya que su variación se relaciona directamente con los cambios químicos de las proteínas de la nueva red proteica. Cuando el pH de la pasta disminuye por debajo de 5.5 existe una pérdida sustancial de calcio coloidal, lo que provoca una disociación progresiva de las submicelas de caseína; en cambio, cuando el pH se aproxima al punto isoeléctrico de caseína (cerca de 4.7), las micelas se desmineralizan y las submicelas se distribuyen de manera más compacta en la pasta, por lo que el queso resultante es más fino en textura (Villegas, 2004).

López (2013) encontró valores de a_w y pH del centro del Queso Bola en un rango de 0.94 a 0.97 y 4.12 - 4.49, respectivamente en quesos elaborados en época de secas. Para la época de lluvias dichas variables fueron de 0.86 a 0.94 en a_w y un pH de 4.66 – 4.76. El pH coincide con los resultados obtenidos en los tres tiempos de maduración estudiados, en un rango de 3.9-4.6.

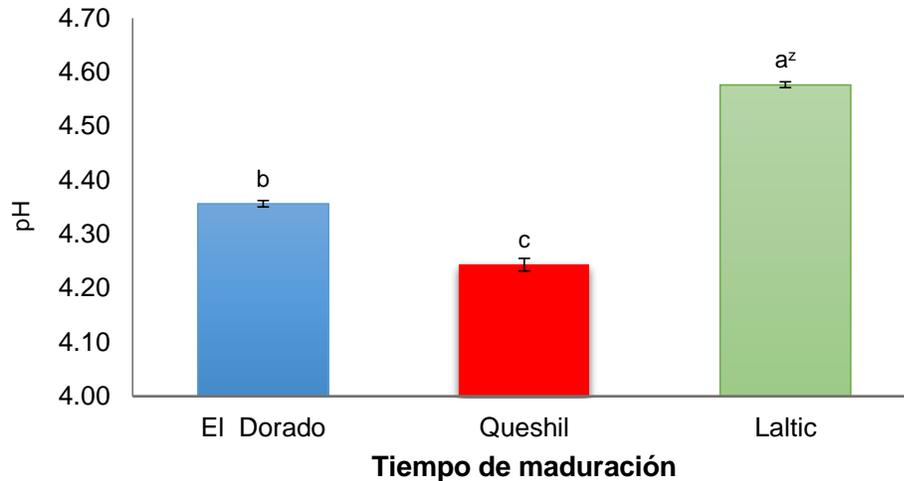
En el T1 las marcas Laltic y El Dorado tuvieron un pH entre 4.4 - 4.6; siendo Queshil el de menor pH 3.9, por lo que se ve reflejado en la cuenta total de las BAL (Figura 3.3.1). Laltic tuvo mayor cuenta de las BAL, seguido de El Dorado. La Figura 3.3.3, muestra tendencia de disminución del pH de los 5 a los 21 días de maduración en un 7% para las marcas Laltic y Dorado; caso contrario de Queshil que aumentó un 7% con respecto a su pH inicial. El T3 con respecto al T2, mostro que el queso tuvo un incremento del 10 %, 6 % y 1 % en las queserías Laltic, El Dorado y Queshil, respectivamente.



Fuente: elaboración propia con datos generados, 2017.

Figura 3.3.3. pH del Queso Bola de Ocosingo Chiapas, de las queserías El Dorado, Queshil y Laltic durante el proceso de maduración (T1:5 días, T2:21 días y T3:40 días).

En la Figura 3.3.4 se observa la comparación de medias con respecto a los resultados de pH en el T3, existiendo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) para las tres marcas de quesos. Siendo Laltic de pH más significativamente superior, seguido El Dorado y Queshil.



^z Medias seguidas con la misma letra no hay diferencia estadística significativa (Tukey, $p \leq 0.05$). Fuente: elaboración propia con datos obtenidos, 2017. T3: 40 días de maduración

Figura 3.3.4. pH en el Queso Bola de Ocosingo, Chiapas de las queserías El Dorado, Queshil y Laltic a los 40 días de maduración (T3).

Cabe mencionar que algunas BAL como los lactobacilos pueden desarrollarse en un pH de 4.0 en alimentos que contienen un carbohidrato fermentable, y pueden crecer hasta un pH de aproximadamente 7.1. Sin embargo, algunas pueden crecer hasta un pH de 3.2, otros tan altos como 9.6 y la mayoría crece en el pH **4.0-4.5**. Por otro lado, las BAL requieren aminoácidos, vitaminas B, bases de purina y pirimidina, para su desarrollo, de ahí su uso en ensayos microbiológicos para estos compuestos. El pH del Queso Bola se encuentra dentro del rango de crecimiento para las BAL (Jay *et al.*, 2005).

3.4. Conclusiones

Las BAL en el Queso Bola, permiten conocer la riqueza microbiológica en quesos artesanales elaborados con leche cruda y su persistencia durante el proceso de maduración que confieren características sensoriales y microbiológicas al queso.

El proceso artesanal y tradición de la elaboración del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas influyen en las características del queso, desde la calidad de la materia

prima, las condiciones y por supuesto el saber-hacer y la experiencia de los maestros queseros.

Laltic fue la quesería significativamente superior ($p \leq 0.05$) en la cuenta de BAL en los tres tiempos de maduración de los quesos, siendo una de las queserías con mayor tradición en la elaboración del Queso Bola.

3.5. Agradecimientos

Al CONACYT, México y la Universidad Autónoma Chapingo por el apoyo financiero de esta investigación.

A la empresa GISENALabs por la oportunidad de realizar una estancia profesional para realizar los análisis microbiológicos.

A los Productores del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas que participaron en esta investigación.

3.6. Literatura citada

- Argüello A. G. (2012). Efecto del tiempo de fermentación en leches fermentadas con cepas de *Lactococcus lactis* sobre la actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina. Tesis de Licenciatura-Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo). Texcoco, México
- Beresford T., Fitzsimons N., Brennan N., Cogan T. 2001. Recent advances in cheese microbiology. *Jorunal Dairy Journal* 11:259-274.
- Castro-Castillo G. (2013). Caracterización de la microflora de tres quesos tradicionales mexicanos: Chihuahua, Cincho y Oaxaca. Tesis de Doctor en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México
- Cadena Meneses, J A. &Castillo Morales, A. (2002). Comparación de diferentes métodos para la estimación de componentes de varianza. *Agrociencia*, 36(6), 713–723.
- Cervantes E. F., Villegas de Gante A., Cesín Vargas A. y Espinoza Ortega A., (2006). Los quesos mexicanos genuinos: un saber hacer que se debe rescatar y preservar.
- Correa Londoño G., (2004). Análisis de Medidas Repetidas. Facultad de Ciencias Agropecuarias Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín. 41 p.
- Escobar R., M. C., Hernández, I. M. y Gaspar, S. D. (2012). Composición fisicoquímica y microbiológica del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas. En Memorias XXXVI Congreso Nacional de Buiatría.
- Epigmenio C. A. & Hernández G. J. S., 2016. Caracterización del potencial probiótico de bacterias ácido lácticas aisladas del queso poro de Balancán, Tabasco. Tesis de licenciatura. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México
- EU. (2006). Council Regulation (EC) No 509/2006 of 20 March 2006 on agricultural products and foodstuffs as traditional specialities guaranteed. *Official Journal of the European Union* L 93/1.
- Flores, R. (2012). *Carcterización de la Microbiota asociada al queso Cotija*. Tesis de Doctorado en Ciencias en Biotecnología. Centro de Botecnología Genómica. Instituto Politécnico Nacional.
- González-Olivares, L.G.; Jiménez-Guzmán, J.; Cruz-Guerrero, A.; Rodríguez-Serrano, G.; Gómez- Ruiz, L.; García-Garibay, M. (2011). Liberación de Péptidos Bioativos por Bacterias Lácticas en Leches Fermentadas Comerciales.
- Georgalaki M., Zoumpopolou G., Mavrogonatou E., Gonzalez V. D.,Alexandraki V., Anastasiou R., Papadelli M., Papadimitriou K., Tsakalidou E., 2017. Evaluation of the antihypertensive angiotensin-converting enzyme inhibitory (ACE-I) activity and other probiotic properties of lactic acid

- bacteria isolated from traditional Greek dairy products. *International Dairy Journal*. Pp. 10-21.
- Guerrero, L., Guàrdia, M. D., Xicola, J., Verbeke, W., Vanhonacker, F., Zakowska-Biemans, S., ... Hersleth, M. (2008). Consumer-driven definition of traditional food products and innovation in traditional foods. A qualitative cross-cultural study. *Appetite*, 52(2), 345–354. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2008.11.008>
- Guerrero, L., Claret, A., Verbeke, W., Enderli, G., Zakowska-Biemans, S., Vanhonacker, F., Hersleth, M. (2010). Perception of traditional food products in six European regions using free word association. *Food Quality and Preference*, 21(2), 225-233. doi:10.1016/j.foodqual.2009.06.003
- Hernández A. H. G. 2014. Supervivencia de *Salmonella* Typhimurium en la corteza del queso Cotija durante el proceso de maduración” Tesis para obtener el título de Ingeniero Bioquímico. Centro Universitario de Los Lagos. Universidad de Guadalajara.
- Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal (2010). Enciclopedia de los Municipios de México, Estado de Chiapas, Ocosingo. Disponible en:
<http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM07chiapas/>
- Instituto de Alimentos de la UACh, 2014. Queso Bola de Ocosingo Chiapas. Video disponible en: <https://youtu.be/p4tblkEbKZs>
- Jay M. J., Loessner M.J. & Golden D.A. (2005). *Modern Food Microbiology*. Chapter 7. Milk, Fermentation, and Fermented and Nonfermented Dairy Products. Seventh Edition. Springer Science.
- Jimenez - Vera, R., González-Cortés N., Magaña-Contreras A., L.-C. A. & C.-P. E. (2010). Aislamiento De Bacterias Lácticas Y Levaduras De Queso De Poro Artesanal. *XII Congreso Nacional de Ciencia Y Tecnología de Alimentos - Mexico*.
- Kongo, J. M. (2013). Lactic Acid Bacteria as Starter-Cultures for Cheese Processing : Past , Present and Future Developments. *Lactic Acid Bacteria – R & D for Food, Health and Livestock Purposes*, (Table 1), 3–22. <http://doi.org/10.5772/55937>
- Lorenzo B. R. (2015). Péptidos Lácteos. Tesis de Máster en Innovación en Seguridad Tecnológica Alimentarias. *Universidad de Santiago de Compostela*.
- López A. R. (2013). Caracterización socio-técnica del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas. Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México
- Ortiz B. M. (2006). Identificación Bioquímica de Bacterias Ácido Lácticas Aisladas a Partir de Productos Lácteos en el Estado de Hidalgo. Tesis para obtener

- el título de Químico en Alimentos. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería. Pachuca, Hidalgo.
- Parra H. R. A. (2010). Lactic acid bacteria: functional role in the foods. Facultad de Ciencias Agropecuarias Vol. 8.
- Pérez E. G. (2017). Caracterización del queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco. Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México
- Poméon T. (2011). De la retórica a la práctica del patrimonio: procesos de calificación de los quesos tradicionales mexicanos. Tesis para obtener el grado de Doctor en problemas económico-agroindustriales. CIESTAAM-UACH. México.
- NMX-F-444-1983. Alimentos. yoghurt o leche búlgara. Foods yoghurt or bulgarian milk. Normas mexicanas. Dirección general de normas.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
- Ramírez-López, J. & Vélez-Ruíz (2014). Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *Temas Selectos De Ingeniería De Alimentos*, 2, 18. Retrieved from <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-62Ramirez-Lopez-et-al-2012.pdf>
- Ramírez, J. C., Ulloa, P., Velázquez, M., Ulloa, J., & Arce, F. (2011). Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Revista Fuente*, Año 2(7), 16. Retrieved from http://www.hablemosclaro.org/repositorio/biblioteca/b_305_bacterias_lacticas_importancia_en_alimentos.pdf
- SAS Institute, Inc., (2002). SAS/STAT® User's Guide, Version 9.0. SAS Institute Inc.: Cary, NC. USA.
- Van Hoorde, K., Vandamme, P., & Huys, G. (2008). Molecular identification and typing of lactic acid bacteria associated with the production of two artisanal raw milk cheeses. *Dairy Science & Technology*, 88, 445–455. <http://doi.org/10.1051/dst:2008011>
- Vázquez, R., Vázquez R. D., Castellanos A. (Sin Fecha) Denominación de origen del queso Bola de Ocosingo, Chiapas. Universidad tecnología de la Selva. Pág. 3-5
- Villegas G. A. Z, Santos, M. A. y Hernández, M. A. (2013). Caracterización Sociotécnica del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Estado de México. México. 105 p.
- Villegas G. A. Z., Santos M. A. y Cervantes E. F., (2016). Los quesos mexicanos tradicionales. 1ª. Edición. Universidad Autónoma Chapingo. 197 p

4. DETERMINACIÓN DE PÉPTIDOS EN QUESO BOLA DE OCOSINGO, CHIAPAS¹

RESUMEN

Los péptidos bioactivos son pequeñas secuencias de amino ácidos en las proteínas de los alimentos que una vez que son liberados presentan una función biológica. Estos péptidos bioactivos pueden producirse por la fermentación de la leche por bacterias ácido lácticas, hidrólisis química, hidrólisis enzimática, o por digestión gastrointestinal. Los péptidos han demostrado poseer varias propiedades bioactivas: antihipertensiva, antimicrobiana, inmunomoduladora, antioxidantes entre otras. En este trabajo de investigación se plantearon dos objetivos: el primer objetivo fue analizar la evolución de péptidos del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas durante distintos tiempos de maduración (5, 21 y 40 días), mediante el HPLC y una columna de exclusión para obtener seis fracciones de peso molecular y concentración de los péptidos. Se observó una clara acumulación en la concentración total de péptidos, siendo el más interesante el grupo de péptidos de bajo peso molecular (3.496-1.423 kDa), durante los tiempos de maduración T2 y T3. El segundo objetivo fue determinar la actividad antihipertensiva durante los tiempos de maduración (5, 21 y 40 días) en el Queso Bola, considerando la concentración de ácido hipúrico generada durante la reacción de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) con el sustrato de Hipuril-L-Histidil-Leucina mediante el HPLC con una columna de fase reversa. Demostrando que a mayor tiempo de maduración se obtiene mayor porcentaje de actividad antihipertensiva en los Quesos Bola de Ocosingo, Chiapas. La quesería Queshil presentó actividad antihipertensiva significativamente superior ($p \leq 0.05$) a los 40 días de maduración del queso.

Palabras clave: péptidos, maduración, peso molecular, actividad antihipertensiva

¹ Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Ing. Melbys López López

Director de Tesis: Dr. Anastacio Espejel García

DETERMINATION OF PEPTIDES IN BOLA CHEESE OF OCOSINGO, CHIAPAS[‡]

ABSTRACT

The bioactive peptides are fragments of proteins than can be produced by the fermentation of milk by lactic acid bacteria, chemical hydrolysis, enzymatic hydrolysis, or by gastrointestinal digestion. The peptides have been shown to possess several bioactive properties: antihypertensive, antimicrobial, immunomodulatory, antioxidants among others. Analyze the development of peptides and determine the antihypertensive activity through the ripening are the aims of this research at different ripening times (5, 21 and 40 days). Six fraction with different molecular weight and concentration were obtained, with HPLC. The antihypertensive activity was determined considering the concentration of hippuric acid generated during the reaction of the Angiotensin-converting enzyme (ECA) with the substrate of Hipuril-L-Histidil-Leucine by HPLC with a reversed phase column. Results suggest than in a low molecular weight (3,496-1,423 kDa), the concentration of peptides increases for 21 and 40 days of ripening. The percentage of antihypertensive activity is correlated with the ripening time of Bola cheese from Ocosingo, Chiapas. Queshil dairy presented a significantly antihypertensive activity ($p \leq 0.05$) at 40 days of ripening

Keywords: peptides, ripening, molecular weight, antihypertensive activity

[‡]Thesis: Universidad Autónoma Chapingo

Author: Ing. Melbys López López

Advisor: Dr. Anastacio Espejel García

4.1. Introducción

Actualmente el desarrollo de alimentos funcionales responde a las demandas y tendencias del mercado y consumidores ya que está cada vez más interesados en los productos que promuevan beneficios en la salud, más allá de los beneficios nutricionales básicos y sensorialmente agradables. En estudios recientes se ha demostrado que la importancia de las proteínas independientemente de sus funciones y calidad nutricional, puede ser empleada para generar péptidos con actividad biológica. Las proteínas de la leche son la fuente principal de dichos péptidos, que están inactivos dentro de la secuencia original de la proteína, los cuales pueden ser liberados de la secuencia proteica por la acción de enzimas digestivas durante el tránsito intestinal o durante el procesamiento del alimento, como en la fermentación de la leche o la maduración de los quesos (Korhonen, 2009; Campos *et al.*, 2013; Domínguez *et al.*, 2014).

Durante la elaboración de un queso se liberan péptidos bioactivos con distintas actividades biológicas como consecuencia de la hidrólisis de las proteínas lácteas. Las características de los péptidos liberados dependerán de la materia prima utilizada en su elaboración y de las características del proceso de fabricación. La bioactividad de péptidos está basada en la composición, secuencia y características fisicoquímicas (hidrofobicidad, carga molecular, y cadenas laterales) de los aminoácidos que los componen. Algunas de las bioactividades reportadas para los péptidos de origen lácteo son: inmunomodulación, antioxidante, hipocolesterolémica, opioide, antitrombótica, antimicrobiana, y las más estudiada, la antihipertensiva. Se han encontrado péptidos con alguna actividad biológica en quesos mexicanos, tal es el caso del que Crema de Chiapas, queso fresco y cocido de Sonora, con actividad antioxidante y antihipertensiva (Korhonen, 2009; Lorenzo, 2015). En México se conocen cerca de 40 diferentes tipos de quesos genuinos artesanales; de este grupo uno de los quesos emblemáticos es el Queso Bola de Ocosingo, Chiapas de producción limitada, exclusivo de esta región chiapaneca, valorado por su atractiva apariencia y su calidad sensorial inigualable (Cervantes *et al.*, 2006).

Debido a lo anterior se espera que la presencia de estos péptidos bioactivos en quesos artesanales, en este caso el Queso Bola, podría aportar beneficios adicionales para el consumidor. Para este trabajo se plantearon dos objetivos, el primero fue determinar la concentración de péptidos que se encuentren en el Queso Bola de Ocosingo, Chiapas durante tres tiempos de maduración (5 días, 21 días y 40 días), el segundo fue determinar si existe una actividad antihipertensiva en el queso, en los tres tiempos de maduración. Con el propósito de demostrar que a mayor tiempo de maduración se encuentran una mayor concentración de péptidos y con mayor porcentaje de actividad antihipertensiva.

4.2. Materiales y métodos

4.2.1. Objeto de estudio

Los quesos fueron obtenidos de tres productores del Queso Bola en Ocosingo, Chiapas, considerando la disponibilidad y facilidades prestadas de los productores. Las queserías seleccionadas principalmente fueron las marcas: “El Dorado”, “Queshil”, y “Laltic”.

4.2.2. Preparación de las muestras

Se les indicó a los productores realizar los quesos de un mismo lote de leche y que controlarán los tiempos de maduración del núcleo del Queso Bola indicados para el estudio de los péptidos.

Las muestras de Quesos Bola fueron piezas de 700 g, esto por cuadruplicado para cada quesería a los: 5, 21 y 40 días de maduración; obteniendo un total de 36 unidades experimentales. Una vez cumplido cada tiempo de maduración de los tiempos marcados, los quesos fueron enviados a la Universidad Autónoma Chapingo, para su análisis correspondiente.

4.2.3. Obtención del extracto soluble en agua

Se pesaron 40 g del núcleo de cada una de las muestras en frascos, adicionando 120 mL de agua destilada y se homogeneizó por 3 minutos. Los frascos fueron colocados en baño María (Thermo Scientific, MaxQ™ 4450) a 40 °C con una agitación de 150 rpm/1 hora. Una vez cumplido el tiempo de incubación se tomó el pH de las muestras, para ajustarlos en un intervalo de pH 4.4 a 4.6 con NaOH 1N y/o HCL 1N, según fueran necesarios y se centrifugaron a 10000 g, 4 °C/10 minutos; después se extrajo el sobrenadante y se filtró a través de filtros de papel Whatman No. 42. Los extractos fueron almacenados a -20 °C en alícuotas de 25 y 1 mL para su uso posterior.

4.2.4. Determinación de proteína total soluble por el método de Biuret

Reactivo de Biuret: se pesó 1.5 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 6.0 g de tartrato de sodio y potasio en 500 mL de agua destilada. Posteriormente con agitación constante se agregaron 300 mL NaOH al 10% y se aforó a un litro con agua destilada. Este reactivo es estable por un año aproximadamente, conservando a temperatura ambiente y protegido de la luz. El reactivo se guardó en un recipiente oscuro.

Patrón de proteínas totales: se pesó 0.5 g de caseína en 50 mL de Na_2CO_3 al 2% en NaOH 0.1 N, para obtener una concentración de $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; se preparó la solución patrón de caseína a concentraciones de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6,7,8, 9 y 10 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ para la construcción de la curva estándar a partir de la solución madre ($10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), aforando a 1mL de agua destilada. Una vez aforado a la concentraciones indicadas, se añadió el reactivo Biuret (5 mL), se mezcló bien el contenido de cada tubo y se dejó reposar por 30 minutos, para finalmente determinar la absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro (DR 5000-HACH).

Proteína soluble en Queso Bola: A 300 μL de cada muestra del extracto de queso, se le agregaron 5 mL del reactivo Biuret, se mezcló bien el contenido de cada tubo y se dejó reposar por 30 minutos, para finalmente determinar la absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro (DR 5000-HACH). Las lecturas obtenidas se interpolaron en la curva tipo, para obtener la concentración de proteína.

4.2.5. Determinación del grado de hidrólisis por el método Ácido Trinitrobencensulfónico (TNBS)

El grado de hidrólisis durante los tiempos de maduración fue determinado por el método TNBS; el cual se basa en la reacción de dicho ácido con grupos amino libres en condiciones ligeramente alcalinas (pH 8.2). La reacción se interrumpe por una baja en el pH, como se muestra en la Figura 4.2.1 (Alder- Niessen, 1979).

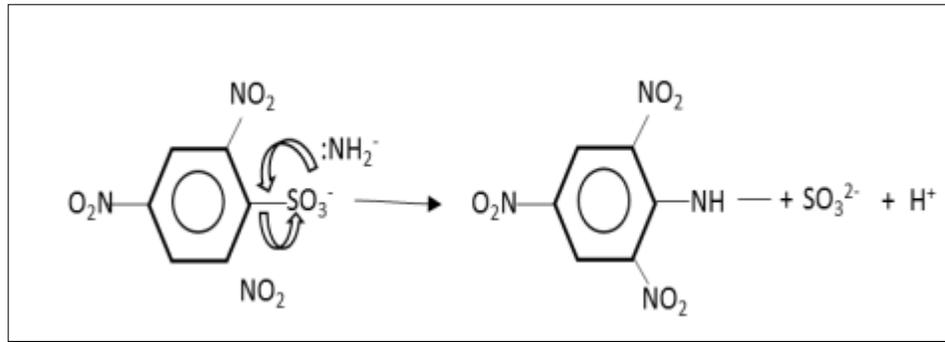


Figura 4.2.1. Reacción del ácido trinitrobencensulfónico con los grupos amino primarios.

El método TNBS se realizó como lo describió Alder-Niessen (1979) con algunas modificaciones. Primero se realizó el reactivo TNBS, utilizando 50 μL de ácido picrilsulfónico (Fluka, Sigma-Aldrich, Steinheim, Suiza) aforando a 25 mL con agua destilada, procurando que no se transmitiera luz en el matraz y se realizó el mismo día que se analizaron las muestras.

Se utilizaron frascos de color ámbar (por la reacción que es sensible a la luz), a cada frasco se le adicionó 64 μL de la muestra más 1 mL de solución amortiguadora de fosfatos 0.2125 M, pH 8.2 y también se le agregó 0.5 mL de reactivo TNBS. Posteriormente, los frascos se incubaron en Baño María a 50 $^{\circ}\text{C}$ por 30 minutos. Concluido el tiempo de incubación se retiraron los frascos y enseguida se paró la reacción adicionando a cada frasco 2 mL de HCl 0.1N, se agitaron y se dejó en reposo por 10 minutos. Por último se tomaron lecturas a una absorbancia de 420 nm de longitud de onda con un espectrofotómetro (DR 5000-HACH). En el caso del testigo blanco se sustituyó en lugar de muestra por agua destilada.

También se determinó el grado de hidrólisis del queso: se pesaron 0.25 g de queso correspondiente al T1 de cada marca y se le adicionó 2.25 mL de HCl 6 N, se incubó a 100 $^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Una vez terminado el tiempo de incubación se neutralizó la reacción con 2.25 mL de NaOH 6 N, al sobrenadante obtenido se le hizo la misma metodología de los extractos solubles.

Además se elaboró una curva patrón utilizando la solución con L-leucina 6 mM, a distintas concentraciones para crear la curva. Los resultados se obtuvieron de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\%GH = \frac{NH_{2tx}}{NH_{HT}} \times 100$$

(1)

Donde:

%GH= Pocentaje del grado de hidrólisis

NH_{2tx} = Grupo amino libre del extracto soluble

NH_{2TH} = Grupo amino libre del queso

4.2.6. Cromatografía de exclusión molecular

La Cromatografía de Exclusión Molecular (CEM) es un método de análisis de distribución de Pesos Moleculares, es decir en la separación de los componentes de una mezcla, aprovechando la distribución de dichos componentes entre dos fases: fase móvil (fase líquida) y fase estacionaria (fase sólida). Su principal aplicación es la separación de las moléculas en función de su tamaño con la finalidad de estudiar al Peso Molecular (Gutiérrez-Bouzán *et al.*, 2009)

La técnica se realizó para conocer la concentración y el peso molecular aproximado de los péptidos encontrados en los sobrenadantes de los diferentes tiempos de maduración. Las muestras se filtraron con filtros de 0.2 µm de membrana de nylon (Agilent, Captiva EconoFilter) antes de ser inyectadas en un HPLC (Perkin Elmer, Modelo Series 200) con una columna de exclusión molecular (BioSep-Sec-S 2000, 300x7.8 mm, 5 µ, Phenomenex, EUA) para obtener fracciones de peso molecular conocido. Se inyectaron 10 µL de cada muestra y se realizaron corridas isocráticas de 30 minutos, con flujo de 0.9 mL min⁻¹ con una fase móvil de amortiguador de fosfatos 0.1 M, pH 6.8 (según el

fabricante de la columna), se utilizó un detector UV/VIS (Perkin Elmer, Modelo Series 200). La determinación se realizó a 280 nm (máxima longitud de onda del triptófano). Con estas mismas condiciones se inyectó un patrón de polipéptidos (Bio Rad, CA, EUA.) con el objetivo de determinar los pesos moleculares de las fracciones obtenidas por medio de una curva patrón.

Para determinar la concentración de cada uno de los péptidos en las diferentes muestras se procedió a construir una curva patrón con β -Lactoglobulina (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA), las concentraciones se realizaron a 280 nm.

4.2.7. Determinación de la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ECA)

La actividad inhibitoria de la ECA se determinará mediante el método propuesto por Quirós (2007) y Pegg, Rybarczyk, & Amarowicz (2007) con algunas modificaciones.

La determinación de la actividad antihipertensiva de cada uno de los sobrenadantes se obtuvo considerando la concentración de ácido hipúrico generada durante la reacción de la ECA con el sustrato Hipuril-L-Histidil-Leucina (HHL) de Sigma-Aldrich (Figura 4.2.2). Se ajustó el pH de la muestra a 8.3 con NaOH 1 M. Se tomaron 100 μ L de muestra, se le adicionaron 200 μ L de amortiguador sustrato (ácido bórico 0.1 M, NaCl 0.3 M, HHL) y 100 μ L de la enzima ECA 2 mU (Sigma-Aldrich Co. LLC, EUA) disuelta en glicerol al 50 %. La mezcla se incubó a 37 °C durante 60 minutos en un baño maría y para inactivar a la enzima se adicionó 300 μ L de HCl 1N.

El sobrenadante se filtró (membrana de nylon 0.2 μ m) y posteriormente se inyectó en un HPLC (Perkin Elmer, Modelo Series 200) bajo las siguientes condiciones: una columna fase reversa (Jupiter 250x4.6 mm, 5 μ m, Phenomex, Torrance, CA). Las corridas isocráticas fueron por 75 min a un flujo de 1 mL, con una fase móvil de acetonitrilo 12.5 % (v/v) en agua desionizada, ajustado a pH 3, con ácido

acético glacial. El volumen usado de muestra fue de 10 μ L. La elución del ácido hipúrico fue a una absorbancia de 228 nm.

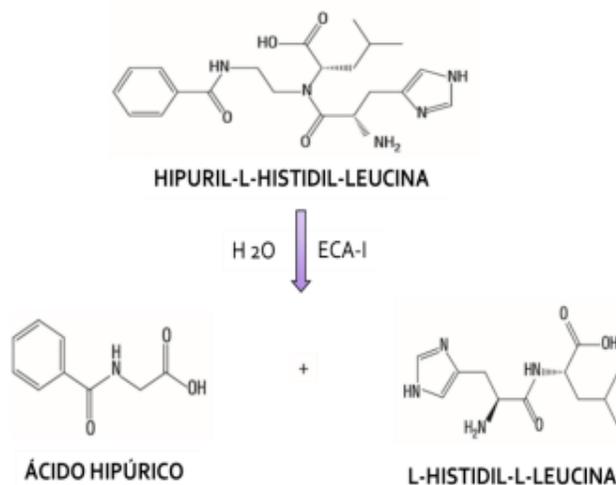
Se preparó el 100 % de actividad adicionando 100 μ L de amortiguador de sustrato (sustituye la muestra) y para 0 % de actividad se adicionarán 100 μ L de agua desinoizada (sustituyendo la enzima). La actividad inhibitoria de la ECA fue estimada de acuerdo con Wanasundara, Ross, Amarowicz, Ambrose, Pegg & Shand (2002), usando la siguiente ecuación:

$$\text{inhibición de la actividad de ECA (\%)} = \left(\frac{[HA]_{control} - [HA]_{muestra}}{[HA]_{control}} \right) \times 100 \quad (2)$$

Donde:

$HA_{control}$ = Concentración de ácido hipúrico del 100% de actividad de la ECA

$HA_{control}$ = Concentración de ácido hipúrico de las muestras



Fuente: Pegg *et al.*, 2007.

Figura 4.2.2. Hidrólisis del sustrato hipuril-L-histidil-L-leucina por la enzima convertidora de angiotensina I (I-ECA) a ácido hipúrico y L-histidil-L-leucina.

4.2.8. Diseño experimental

Concentración de péptidos solubles: el diseño de los tratamientos se fundamentó en los factores: Queso (tres niveles) y las fracciones obtenidas en la exclusión molecular (5 niveles). La variable respuestas fue la concentración de péptidos ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$). El análisis se realizó bajo un Modelo MIXTO con medidas repetidas en el tiempo de maduración (5, 21 y 40 días) con 3 repeticiones, generando 135 unidades experimentales.

Proteína soluble, grado de hidrólisis y porcentaje de inhibición de la ECA: el diseño de los tratamientos se fundamentó usando una estructura unifactorial de los tratamientos y un esquema de aleatorización completamente al azar. Bajo un Modelo Mixto con medidas repetidas en el tiempo (5, 21 y 40 días), con 4 repeticiones, generando 36 combinaciones para la variable respuesta proteína soluble y con 3 repeticiones, generando 27 combinaciones para grado de hidrólisis y porcentaje de inhibición de la ECA.

Para la definición de estructura de varianzas se utilizó el método RELM (estimación por máxima verosimilitud restringida) y como criterio de información para elegir la estructura de la varianza más apropiada se usó el criterio de información bayesiano de Schwarz (BIC). El modelo mixto expresa lo siguiente (Cadena & Castillo, 2002; Correa, 2004):

$$Y = X\beta + U\xi + \varepsilon$$

Sujeto a:

$$E \begin{bmatrix} \xi \\ \varepsilon \end{bmatrix} = \mathbf{0}; \text{Var} \begin{bmatrix} \xi \\ \varepsilon \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{G} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{R} \end{bmatrix}$$

$$\begin{aligned} \text{Dónde: } R &= \sigma^2 \mathbf{I}_n \\ \text{Var}(Y) &= \mathbf{U}\mathbf{G}\mathbf{U}^T + \mathbf{R} \end{aligned}$$

Donde:

\mathbf{Y} = es un vector ($n \times 1$) de observaciones.

β = es un vector ($s \times 1$) de parámetros desconocidos de efectos fijos.

$X =$ es una matriz ($n \times s$) conocida, usualmente denominada matriz diseño de efectos fijos.

$\xi =$ es un vector ($t \times 1$) de efectos aleatorios, es de la forma $\xi' = [\xi'_1, \xi'_2, \dots, \xi'_c]$ con ξ_i de orden t_i y $t_1 + t_2 + \dots + t_c = t$ y $\xi' = (0, \sigma_e^2 I_n)$ con $\text{cov}(\xi_i, \xi_{i'}) = 0$ para $i \neq i'$.

$U = [U_1, U_2, \dots, U_c]$ Es una matriz ($n \times t$) de incidencias, conocida, con U_i de dimensiones $n \times t_i$, denominada matriz diseño de efectos aleatorios para estudios longitudinales.

$\epsilon \sim (0, \sigma_e^2 I_n)$ es el vector ($n \times 1$) de términos de error aleatorios.

Para identificar diferencias significativas se realizaron comparaciones de medias con la prueba Tukey-Kramer con un nivel de significancia de 0.05, mediante el Paquete Estadístico SAS 9.0 (SAS, Institute Inc; Cary, NC, U.S.A).

4.3. Resultados

4.3.1. Determinación de proteína total soluble (Biuret)

La reacción de Biuret (Figura 4.3.1) es una reacción coloreada (violeta) debido a la formación del complejo Cu en medio alcalino con compuestos que presenten grupos $-\text{CO}-\text{NH}-$ (enlace peptídico). El complejo se basa en la desprotección de los grupos amida para formar el enlace con el cobre (II) por el establecimiento de un enlace coordinado entre metal y los pares de electrones libres de los átomos de oxígeno y nitrógeno del péptido, presentando un máximo de absorción de 540 nm (Herrera, Bolaños & Lutz, 2003).

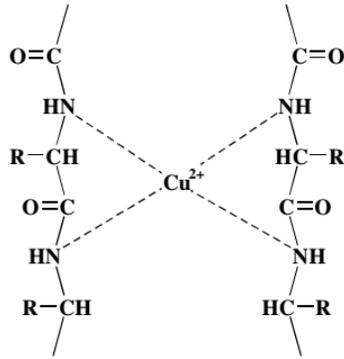
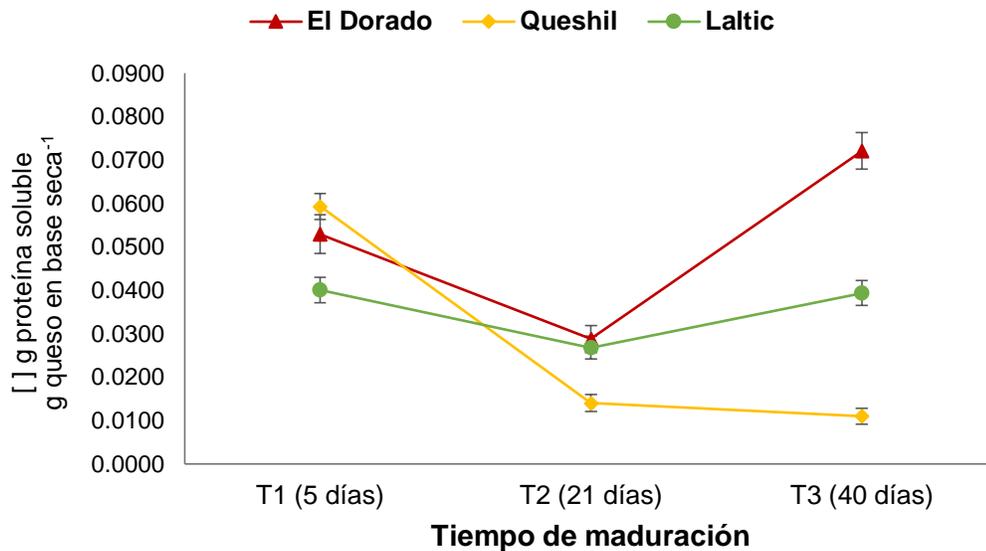


Figura 4.3.1. Formación del complejo Cu^{2+} en medio alcalino con los enlaces peptídicos.

Cuando se compara con el estándar, tratado por el mismo proceso (caseína) se obtuvo el contenido de proteína soluble de las muestras. El desarrollo del color es proporcional al número de enlaces peptídicos, no tiene relación obvia con el tipo de composición de proteína, peso molecular y residuos de aminoácido (Herrera, Bolaños & Lutz, 2003; Zheng, Wu, He, Yang, & Yang, 2017).

En la Figura 4.3.2, se muestran los resultados que se obtuvieron de proteína soluble para las tres queserías, donde se puede observar la tendencia de la concentración de proteína soluble con respecto a los tiempos de maduración. Del T1 al T2 disminuye la concentración de proteína soluble, un 50 % para el caso de la marca El Dorado, 75 % para Queshil y 30 % para Laltic. Sin embargo, en el T3 con respecto al T1, el Dorado tiende a aumentar desde un 36 %, Laltic disminuye un 2 % y Queshil continúa disminuyendo. La marca Queshil, se comportó de manera distinta en los tres tiempos de maduración con respecto a los demás, ya que mostró una tendencia a disminuir el porcentaje de proteína soluble, esto coincide con su composición de proteína total en porcentaje de base seca, donde nos muestra que conforme aumenta el tiempo de maduración del queso, el contenido de proteína total fue disminuyendo. Caso contrario con El Dorado y Laltic, que en el T3 tienden a aumentar la concentración.



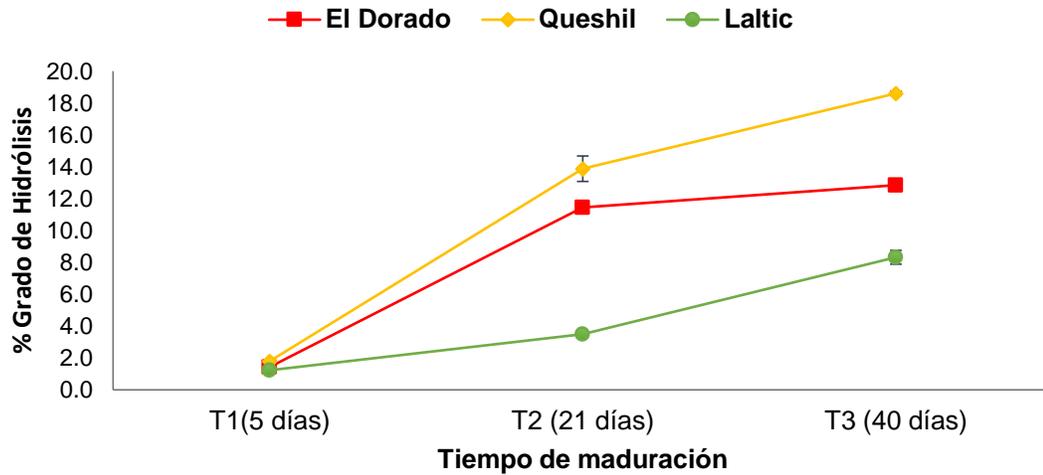
Fuente: elaboración propia con datos generados, 2018.

Figura 4.3.2. Evolución de la concentración de proteína soluble en el tiempo de maduración (T1: 5días, T2: 21 días y T3: 40 días) de los Quesos Bola de las queserías El Dorado, Queshil y Laltic.

Para el T3 (40 días de maduración) hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las marcas de quesos, siendo la marca El Dorado la de mayor concentración de proteína soluble, seguido por Laltic y por último Queshil.

4.3.2. Determinación del grado de hidrólisis (TNBS)

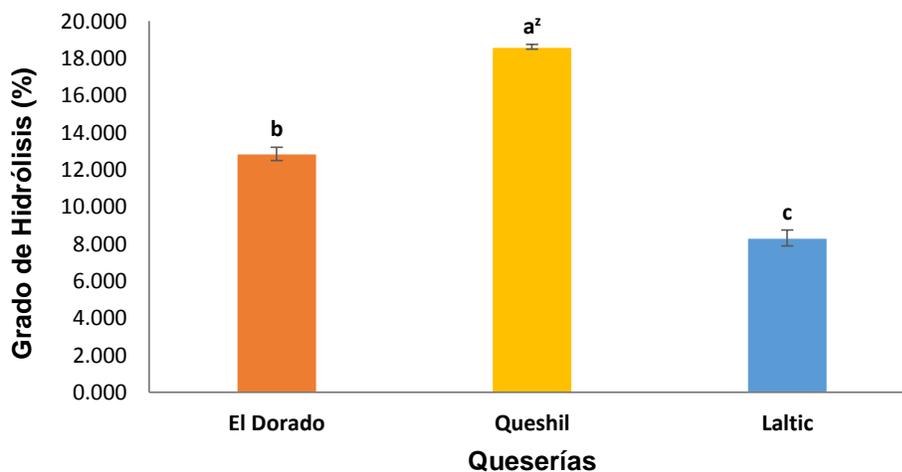
La determinación del grado de hidrólisis durante los tiempos de maduración de los quesos, se realizó por el método TNBS, para determinar los grupos amino libres. La Figura 4.3.3 muestra los resultados obtenidos del grado de hidrólisis durante los diferentes tiempos de maduración, donde se puede observar la tendencia en aumento de hidrólisis de los quesos proporcional al tiempo de maduración. Las marcas Queshil y El Dorado aumentaron el 90 % de grado de hidrólisis del T1 al T3 y Laltic un 85 %. Esto implica que a medida que aumenta el tiempo de maduración de los quesos incrementa la concentración del grupo amino libre, generado a través del sistema proteolíticos de las BAL presente, dado que degradan péptidos para obtener aminoácidos (Torres, 2014).



Fuente: elaboración propia con datos generados, 2018

Figura 4.3.3. Grado de hidrólisis (%) durante los tiempos de maduración de los Quesos Bola de las queserías El Dorado, Queshil y Laltic.

La marca Queshil obtuvo un mayor grado de hidrólisis comparado con las otras marcas, obteniendo hasta un 18 % de grado de hidrólisis a los 40 días de maduración, dejando por un tercio a la marca el Dorado y por más de la mitad a Laltic. Respecto a los resultados en el tiempo maduración T3 hubo diferencias significativas entre queserías ($p \leq 0.05$) (Ver Figura 4.3.4).



^z Medias seguidas con la misma letra no hay diferencia estadística significativa (Tukey, $p \leq 0.05$). Fuente: elaboración propia con datos generados, 2018.

Figura 4.3.4. Grado de hidrólisis (%) del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas en el T3 (40 días de maduración) en las queserías El Dorado, Queshil y Laltic.

El proceso de hidrólisis de una proteína consiste en la ruptura de los enlaces peptídicos (enlaces tipo amida: $-\text{COO}-\text{HN}_2-\text{N}$) en presencia de agua. De la ruptura se obtendrán péptidos de longitud variable, de bajo peso molecular y aminoácidos libres (Fernández, 2015).

El pH al cual se produce el desuerado determina el contenido mineral de un queso. La pérdida de calcio y fosfato procedentes de las micelas de caseína es un factor decisivo en la proteólisis posterior y así condiciona la estructura básica y textura del queso. La proteólisis durante el madurado modifica la textura del queso, se ha estudiado que la caseína se hidroliza más rápidamente a bajo pH que al pH normal del queso, debido, principalmente a la solubilización del complejo fosfato cálcico coloidal de las micelas de caseína que forman la cuajada, haciendo que las micelas sean más susceptibles a la proteólisis (Trujillo,1996). Esto explica el comportamiento del queso de la marca Queshil, quien obtuvo mayor porcentaje de hidrólisis proteica, al ser de los quesos con menor pH (T1: 3.9; T2:4.2; T3: 4.2).

4.3.3. Cromatografía de exclusión molecular

Por medio de la cromatografía de exclusión molecular se estimó el peso molecular de los péptidos generados durante la maduración de los quesos. En los cromatogramas de exclusión, las moléculas de tamaños más grandes dan lugar a picos iniciales y los picos más pequeños se eluyen al final, donde el tamaño se asocia con el peso molecular (Gutiérrez-Bouzán *et al.*, 2009). Con el estándar de polipéptidos (patrón de PM conocidos) se dividieron en secciones de acuerdo al tiempo de aparición y peso molecular (kDa): F-I (26.625), F-II (16.95), F-III (14.437), F-IV (6.512), F-V (3.496), F-VI (1.423), para después compararlo a los cromatogramas de las muestras.

El cromatograma de la Figura 4.3.5, muestra el comportamiento de los picos que aparecen en cada fracción con respecto a los tiempos de maduración. En el T3 los picos de las fracciones tienden a incrementar a partir de la F-IV y F-VI,

indicando que a medida que aumenta la maduración del queso aparecen péptidos de menor peso molecular.

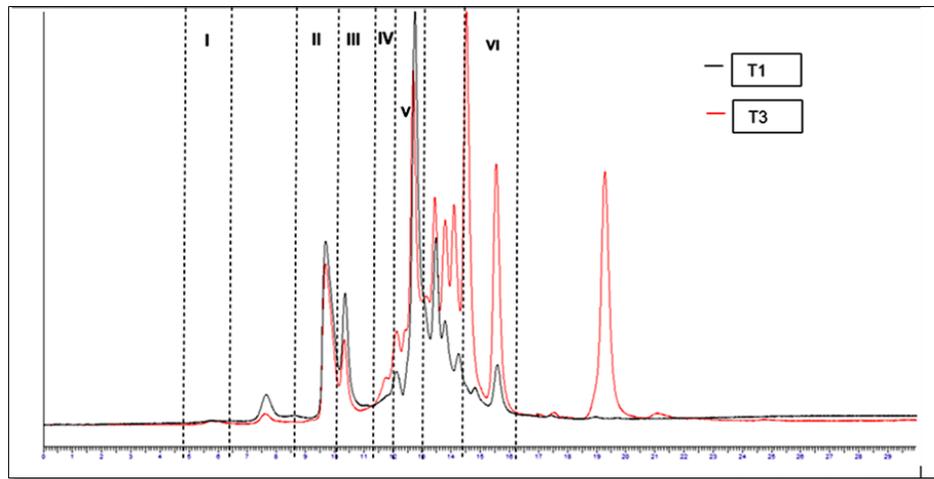
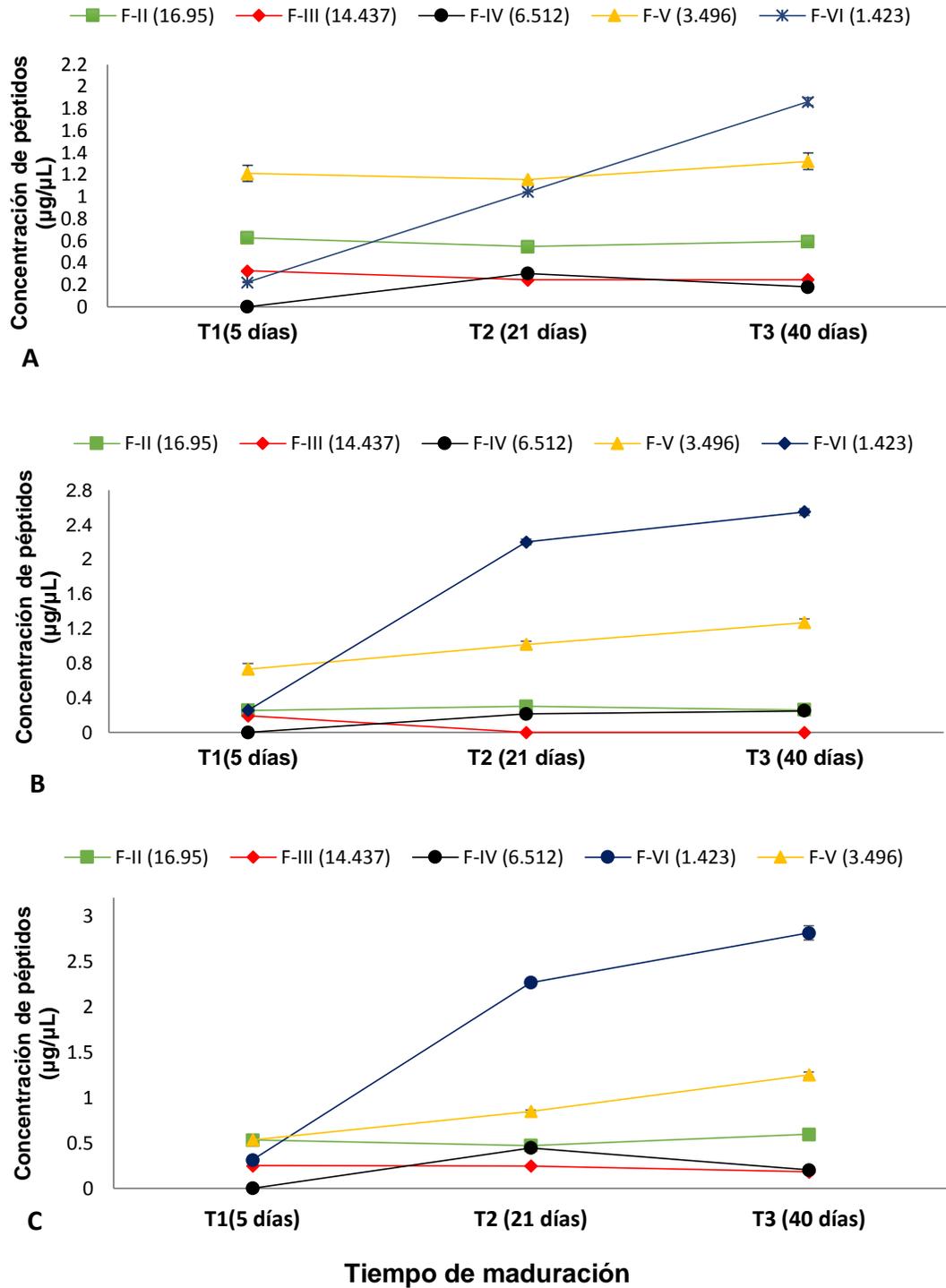


Figura 4.3.5. Perfil cromatográfico de exclusión molecular (Columna (BioSep-Sec-S 2000) de las fracciones obtenidas en los extractos solubles de quesos Bola en el T1 (5 días de maduración) y T3 (40 días de maduración) a una longitud de onda de 280 nm. Fracción I: I, Fracción II: II, Fracción III: III, Fracción IV: IV, Fracción V: V y Fracción VI: VI.

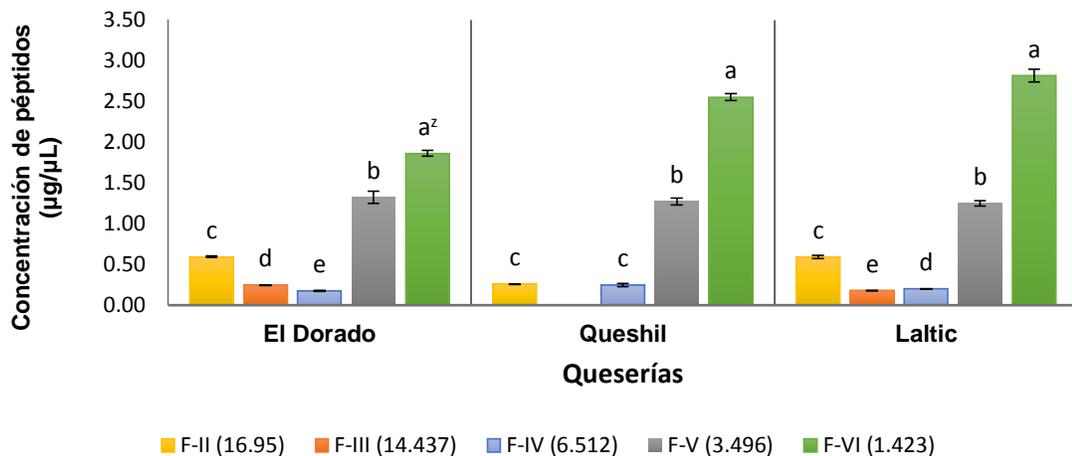
De acuerdo a las concentraciones obtenidas en la presente investigación se observa una acumulación (Figura 4.3.6) que hubo una clara acumulación en la concentración total de péptidos, siendo el más interesante el grupo de péptidos de bajo peso molecular (3.496-1.423). La F-V (3.496 kDa) incremento un 57 % para Laltic, 42 % Queshil y El Dorado un 8 %; y la F-VI (1.423 kDa) incremento 90 % de la concentración de péptidos en el T3 con respecto al T1 de maduración de los quesos; explicando una tendencia ascendente en la concentración de péptidos de bajo peso molecular a mayor tiempo de maduración. El fraccionamiento primario de las proteínas debido a la acción de proteasas integradas en el sistema proteolítico de las bacterias lácticas da lugar a la producción de péptidos de alto peso molecular. Esta concentración disminuye por la hidrólisis de los péptidos, dando lugar a péptidos de bajo peso molecular (Figuerola, 2007; González-Olivares, *et al.*, 2011).



Fuente: elaboración propia con datos generados, 2018.

Figura 4.3.6. Concentraciones y peso molecular (entre paréntesis) de las fracciones obtenidas de los sobrenadantes de queso en tres tiempos de maduración, para los quesos: (A) El Dorado, (B) Queshil y (C) Laltic.

En la Figura 4.3.7 se reporta el comportamiento de la concentración de péptidos en el T3, tiempo en que se finalizó la maduración de los quesos. Existieron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las fracciones de cada queso.



^z Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha=0.05$).
Fuente: elaboración propia con datos generados, 2018.

Figura 4.3.7. Fracciones de Péptidos de los 40 días de maduración (T3) en queso El Dorado, Queshil y Laltic.

A los 40 días de maduración, la fracción de mayor concentración fue la F-VI en cada una de las tres marcas de quesos. Cabe destacar que con respecto al tiempo de maduración, la concentración de los péptidos fue en aumento a partir de las fracciones F-V y F-VI, que corresponden a pesos moleculares bajos, caso contrario con las fracciones de la F- II-FIV donde a mayor tiempo de maduración van disminuyendo los péptidos de alto peso molecular.

El peso molecular de las fracciones fue comparada con los pesos moleculares de los péptidos bioactivos que han sido reportados por otros autores (Cuadro 4.3.1).

Cuadro 4.3.1. Comparación de posibles péptidos potencialmente bioactivos durante la maduración de los Quesos Bola

Fracciones	PM (kDa) encontrado	PM (kDa) reportado	Posible origen	posible actividad	Referencia
F-IV	6.512	6.089	ND	Antihipertensivo	Hong <i>et al.</i> , 2008
		3.13	β -CN (1-25)-4P	Acarreador de minerales	Figuroa <i>et al.</i> , 2012
F-V	3.496	3.862	LF f(17-47)	Antimicrobiano	BIOPEP, 2014
		1.39	α s1-CN	Antihipertensivo	BIOPEP, 2014
F-VI	1.423	1.463	β -CN f(7-18)	Antitrombótico	González-González, 2011
		1.448	β -CN f(94-106)	Acarreador de minerales Antihipertensivo	Figuroa, 2007 Quirós <i>et al.</i> , 2005

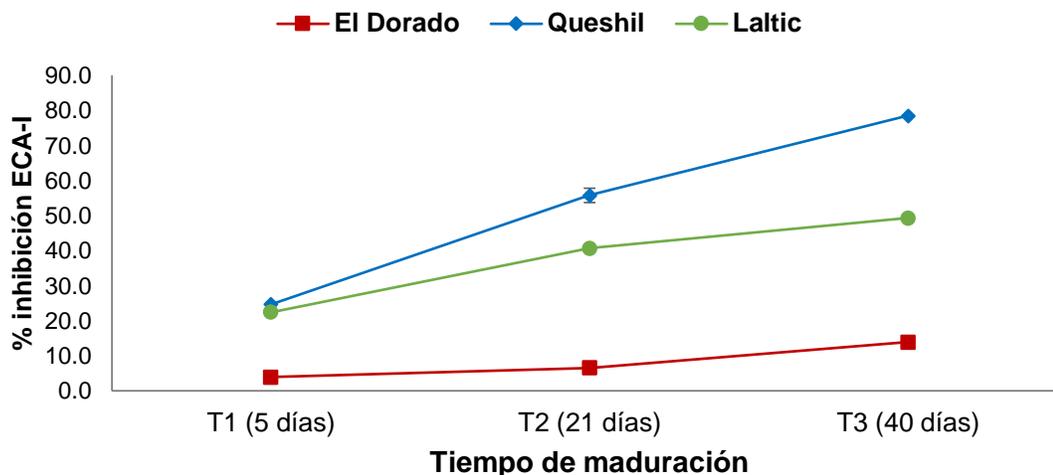
Fuente: elaboración propia

Se encontró que en las fracciones F-IV a F-VI tienen pesos moleculares que coinciden con péptidos inhibidores de la ACE o actividad Antihipertensiva. La fracción F-VI es el de menor peso molecular (1.423 kDa) y coincide con reportes de autores que pueden existir más actividades biológicas fuera de la antihipertensiva (Quirós *et al.*, 2005; Figuroa, 2007)

4.3.4. Determinación de la inhibición de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA)

En la Figura 4.3.8, se muestra la actividad inhibitoria de la ECA de los quesos durante el tiempo de maduración. Existió un incremento en la inhibición de la ECA a mayor tiempo de maduración. Considerando como referencia el porcentaje de inhibición de la ECA más alto del T3, la marca El Dorado aumentó un 13 %, Laltic

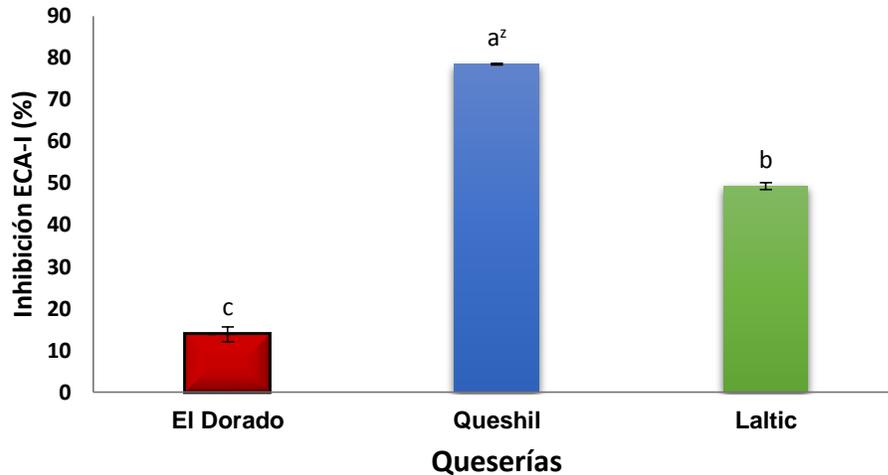
un 54 % y Queshil un 70 % con respecto del T1 al T3. Junto con las otras marcas comparten el mismo comportamiento, puesto que a mayor tiempo de maduración, el porcentaje de inhibición de la ECA va aumentando y se traduce en el aumento de la concentración de péptidos pequeños; es decir péptidos de bajo peso molecular por el grado de hidrólisis que sufren las proteínas durante el proceso de maduración.



Fuente: elaboración propia con datos generados, 2018.

Figura 4.3.8. Inhibición (%) de la ECA durante los tiempos de maduración de los Quesos Bola de Ocosingo, Chiapas provenientes de las queserías El Dorado, Queshil y Laltic.

La inhibición de la ECA de la marca Queshil en el T3 con tan solo 250 μg de proteína para el análisis, resultó con un $79\% \pm 0.20$ siendo la marca del Queso Bola con mayor porcentaje de inhibición de la actividad enzima convertidora de angiotensina. Sin embargo, la marca Laltic obtuvo el T3 $49\% \pm 0.79$ de inhibición de la ECA. Al realizar el análisis estadístico se encontró diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las marcas de quesos (Figura 4.3.9).



^z Medias seguidas con la misma letra no hay diferencia estadística significativa (Tukey, $p \leq 0.05$).
Fuente: elaboración propia con datos obtenidos, 2018

Figura 4.3.9. Inhibición (%) de la ECA a los 40 días de maduración (T3) del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas provenientes de las queserías El Dorado, Queshil y Laltic.

Durante el proceso de maduración del queso se produce una hidrólisis de las proteínas lácteas como consecuencias de la acción concertada de varias enzimas de distintas procedencias como son: enzimas endógenas de la leche (plasmina), el cuajo utilizado para la fabricación del queso (enzima: renina) y las enzimas del cultivo microbiano iniciador (BAL) y otro tipo de microorganismos que intervienen en esta etapa de la maduración (Quirós, 2007). Por lo que en esta etapa se forman una serie de péptidos, cuyo número y características dependen de la materia prima utilizada en la elaboración del queso (calidad de la leche, el cuajo y los microorganismos autóctonos de la leche) y también del proceso de elaboración del queso (Saito, Nakamura, Kitazawa, Kawai & Itoh, 2000). La presente investigación muestra que el Queso Bola Queshil es estadísticamente superior en el porcentaje de actividad antihipertensiva; esto pudiera atribuirse al proceso de elaboración del queso, ya que es controlado por el mismo dueño de la quesería, él controla los tiempos de amasado, maduración, y la calidad de leche de proveedores de su confianza.

El tener diferentes proveedores de materia prima y proceso tecnológico a base de leche cruda, pudieran impactar negativamente al producto final. Sin embargo, los hallazgos de la presente investigación demuestran que el Queso Bola, elaborado con leche cruda aporta beneficios a la salud, que no poseen quesos elaborados, con leche pasteurizada, es decir el Queso Bola de Ocosingo, Chiapas, además de ser considerado un alimento con características sensoriales únicas, aporta otros compuestos que pudieran contribuir al bienestar del consumidor, esta propiedad permite considerar al Queso Bola como un alimento funcional.

4.4. Conclusión

A los 40 días de la maduración (T3) del Queso Bola se obtienen péptidos de bajo peso molecular, que pueden tener mayores actividades biológicas, tal es el caso de la actividad antihipertensiva.

A los 40 días de maduración se obtuvo el porcentaje de mayor inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (actividad antihipertensiva) en los tres quesos, siendo la quesería Queshil quien presento actividad antihipertensiva significativamente superior ($p \leq 0.05$).

4.5. Agradecimientos

Al CONACYT, México y la Universidad Autónoma Chapingo por el apoyo financiero de esta investigación.

A la empresa GISENALabs por darnos la oportunidad de realizar una estancia de investigación para realizar la fase experimental de éste proyecto.

A los productores del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas que participaron en esta investigación.

4.6. Literatura citada

- 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. <http://doi.org/10.1021/jf60226a042>
- Cervantes, F., Villegas, A., Cesín, A., & Espinosa, A. (2006). Los quesos mexicanos genuinos: un saber hacer que se debe rescatar y preservar. *III Congreso Internacional de La Red SIAL Alimentación Y Territorios*.
- Domínguez González, K. N., Cruz Guerrero, A. E., Márquez, H. G., Gómez Ruiz, L. C., García-Garibay, M., & Rodríguez Serrano, G. M. (2014). El efecto antihipertensivo de las leches fermentadas. *Revista Argentina de Microbiología*, 46(1), 58–65. [http://doi.org/10.1016/S0325-7541\(14\)70050-1](http://doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70050-1)
- Figueroa Hernández C. Y. (2007). Utilización del sistema proteolítico de *Lactococcus lactis* para la generación de péptidos potencialmente bioactivos. Tesis de maestría, (Universidad Autónoma Metropolitana), 1–106.
- Figueroa-Hernández, C.; Cruz-Guerrero, A.; Rodríguez-Serrano, G.; Gómez-Ruiz, L. . G.-G., & M.; Jiménez-Guzmán, J. (2012). Producción de Péptidos Fijadores de Calcio y Hierro por *Lactococcus lactis* subsp. cremoris NCFB 712. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 11, 259–267.
- González-González, C. R., Tuohy, K. M., Jauregi, P. 2011. Production of angiotensinI-converting enzyme (ACE) inhibitory activity in milk fermented with probiotic strains: Effects of calcium, pH and peptides on the ACE-inhibitory activity. *Int. Dairy J.* 21: 615-622
- Gutiérrez-Bouzán M. C., A. Burdó, J. C. (2009). La Cromatografía De Exclusión: Análisis De La Distribución De Pesos Moleculares En Siliconas Por Gpc. *Boletín Intexter (U.P.C.)*, (135), 33–40. Retrieved from <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099/13132/>
- González-Olivares, L.G.; Jiménez-Guzmán, J.; Cruz-Guerrero, A.; Rodríguez-Serrano, G.; Gómez- Ruiz, L.; García-Garibay, M. (2011). Liberación de Péptidos Bioativos por Bacterias Lácticas en Leches Fermentadas Comerciales.
- Herrera C., Bolaños N. & Lutz G. (2003) *Química de Alimentos. Manual de laboratorio 1ra. Edición*. Universidad de Costa Rica. Costa Rica.
- Hong, F., Ming, L., Yi, S., Zhanxia, L., Yongquan, W., Chi, L. 2008. The antihypertensive effect of peptides: A novel alternative to drugs?. *Peptides*. 29: 1062-1071
- Korhonen, H. (2009). Milk-derived bioactive peptides: From science to applications. *Journal of Functional Foods*, 1(2), 177–187. <http://doi.org/10.1016/j.jff.2009.01.007>

- Lorenzo B. R (2015). Péptidos Lácteos. Para optar al título de Máster en Innovación en Seguridad y Tecnología Alimentarias. *Universidad de Santiago de Compostela*.
- Pegg, R. B., Rybarczyk, A., & Amarowicz, R. (2007). Determination of Hippuric Acid By Rp-Hplc Using Two Different Analytical Columns – a Short Report. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 57(4), 447–450.
- Poméon T. (2011). De la retórica a la práctica del patrimonio: procesos de calificación de los quesos tradicionales mexicanos. Tesis para obtener el grado de Doctor en problemas económico-agroindustriales. CIESTAAM-UACH. México
- Quirós, A. 2007. Leches fermentadas con actividad antihipertensiva: Identificación de péptidos y evaluación de su biodisponibilidad. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Madrid.
- SAS Institute, Inc., (2002). SAS/STAT® User’s Guide, Version 9.0. SAS Institute Inc.: Cary, NC. USA.
- Segura Campos M., Chel Guerrero L., B. A. D. (2013). Bioactividad de péptidos derivados de proteínas alimentarias. Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán (México). <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.3926/oms.136>
- Saito, T., Nakamura, T., Kitazawa, H., Kawai, Y. y Itoh, T. (2000). Isolation and structural analysis of antihypertensive peptides that exist naturally in Gouda Cheese. *J. Dairy Sci.*, 83, 1434-1440
- Skeggs, L. T., Kahan, J. E. y Sumway, N. P. (1956). The preparation and function of the angiotensin-converting enzyme. *J. Exp. Med.*, 103, 295-299.
- Torres Salas V. (2014). Determinación de péptidos antihipertensivos, antitrombóticos y bactericidas durante la fermentación de leche con *Lb. Rhamnosus GG* y *Lb. Delbrueckii sp. Bulgaricus NCFB 2772*. Tesis de Maestría. Para Maestra en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. México.
- Trujillo Mesa A. J. (1996). Procesos de proteólisis primaria que intervienen en la maduración del queso de cabra. Tesis Doctoral. Doctor en Veterinaria. Facultad de Veterinaria de la U.A.B.
- Wanasundara, P. K. J. P D., Ross, A. R. S., Amarowicz, R., Ambrose, S. J., Pegg, R. B., Shand, P. J. 2002. Peptides with angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity from defibrinated, hydrolyzed bovine plasma. *J. Agric. Food Chem.* 50: 6981-6988.i
- Zheng, K., Wu, L., He, Z., Yang, B., & Yang, Y. (2017). Measurement of the total protein in serum by biuret method with uncertainty evaluation. *Measurement: Journal of the International Measurement Confederation*, 112(15), 16–21. <http://doi.org/10.1016/j.measurement.2017.08.013>

5. CARACTERIZACIÓN DE LA AGROINDUSTRIA Y CONSUMIDORES DEL QUESO BOLA DE OCOSINGO, CHIAPAS¹

RESUMEN

El Queso Bola de Ocosingo Chiapas (QBO) es un queso tradicional el cual posee características distintivas; sin embargo, la normativa actual, restringe la comercialización de quesos elaborados con leche cruda y adicionalmente, existe una escasa valorización del consumidor con respecto a este tipo de productos. Los objetivos de esta investigación fueron medir la adopción de innovaciones (INAI) y su relación con las ganancias generadas en las empresas de QBO y los aspectos de valoración en consumidores. Se seleccionaron seis queserías del QBO, se realizó un análisis económico (beneficio/costo) y un análisis de componentes principales (ACP) para identificar las variables que influyen las ganancias económicas. Como resultado se observó que las innovaciones de mayor adopción fueron Administración y estandarización del proceso. Algunas empresas se ven fortalecidas por la conservación del proceso artesanal del queso, manejo de residuos y la estrategia comercial ya que repercute en mejores ganancias. Para analizar los factores que influyen en la decisión de compra del QBO en los consumidores, se aplicaron cien encuestas a consumidores del queso distribuidas en Ocosingo, Chiapas y en Texcoco, Estado de México. Se realizó una regresión logística para obtener las variables de mayor influencia a la disposición a pagar y un ACP para identificar las variables que influyen en la decisión de compra; los datos se analizaron en XLSTAT. Los resultados indican que los consumidores de mayor ingreso y con un nivel de escolaridad alto tienen mayor disposición a pagar un precio más alto y valorizan mejor a este tipo de productos. La estrategia es una mayor difusión del producto con el grupo de consumidores identificado y comercializar el producto en este estrato.

Palabras clave: innovación, agroindustria, consumidores

¹Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Ing. Melbys López López

Director de Tesis: Dr. Anastacio Espejel García

CHARACTERIZATION OF THE AGROINDUSTRY AND CONSUMERS IN BOLA CHEESE FROM OCOSINGO, CHIAPAS

ABSTRACT

The Bola cheese from Ocosingo Chiapas (QBO) is a traditional cheese which has distinctive characteristics; However, the current regulations restrict the marketing of cheeses made with raw milk and, additionally, there is little appreciation of the consumer with respect to this type of products. The aims of this research were to measure the adoption of innovations (INAI) and its relationship with the profits generated in QBO companies and consumer valuation characteristics. Six dairy were selected, an economic analysis (benefit / cost) and a principal component analysis (PCA) were carried out to identify the variables that influence the economic gains. To analyze the factors that influence the purchase decision of the QBO in consumers, one hundred surveys were applied to cheese consumers distributed in Ocosingo, Chiapas and in Texcoco, Estado de Mexico. A logistic regression was performed to obtain the variables with the greatest influence on the willingness to pay and PCA to identify the variables that influence the purchase decision; the data was analyzed in XLSTAT. As a result, it is observed that the most adopted innovations were Administration and standardization of the process. Some companies are strengthened by the conservation of the artisan cheese process, waste management and commercial strategy as it has an impact on better profits. Consumers with higher income and a high level of education are more willing to pay a higher price and better value this type of product. The strategy is a greater diffusion of the product with the identified group of consumers and to commercialize the product in this stratum.

Keywords: *inovation, agroindustry, consumer*

²Thesis: Universidad Autónoma Chapingo

Author: Ing. Melbys López López

Advisor: Dr. Anastacio Espejel García

5.1. Introducción

Los alimentos tradicionales (TFP) son considerados elemento importante de la cultura, identidad y patrimonio gastronómico. Contribuyen al desarrollo, diversificación y sostenibilidad de muchas áreas rurales, deteniendo el éxodo. La Unión Europea es la región líder en la investigación y comercialización de alimentos tradicionales. Europa, es la región donde la cultura y el reconocimiento social de estos productos han sido consecuencia de diversos trabajos de investigación y difusión de las bondades y atributos de éste tipo de productos. La caracterización del alimento, la protección jurídica para evitar el plagio y la implementación de modelos que certifiquen la autenticidad del producto son esfuerzos que dieron como resultado la comercialización legal de productos tradicionales. La producción de TFP en Europa se lleva a cabo principalmente por las pequeñas y medianas empresas (PyME), y estos productos se comercializan mayormente mediante una diferenciación o protección, entre las principales tenemos a las denominaciones de origen, indicaciones geográficas y marcas colectivas. (Trichopoulou *et al.* ,2006; Guerrero *et. al.*, 2016; Kristbergsson & Oliveira, 2016).

En México, los quesos genuinos elaborados a partir de leche cruda son los productos más emblemáticos y representativos de un alimento tradicional. Las empresas agroindustriales en donde se produce este tipo de queso están por lo regular aglomeradas en espacios rurales donde comparten recursos naturales, geográficos y agroecológicos que confieren atributos específicos a la materia prima (leche) y por consiguiente al queso y representan un potencial para su diferenciación con respecto a los quesos de imitación e industrializados.

Los eslabonamientos dentro de este tipo de cadenas son cortos y con un nivel de proximidad elevado; la comercialización se realiza mediante modelos de circuitos cortos, que permite a estos quesos insertarse de manera eficiente en los mercados locales y en muy pocas ocasiones nacionales, disminuyendo los costos de transacción, incluso se habla de que son competitivos aún con todas las asimetrías en el acceso y valoración del consumidor. La empresa quesera

tradicional está compuesta por micro y pequeñas empresas, con organización productiva dinámica y lógica de producción propia; se caracteriza por la incorporación de mano de obra familiar, integración de recursos locales y aplicación de tecnología e innovaciones acorde a las necesidades de producción y demanda del mercado donde se insertan (Cervantes, Villegas, Cesín & Espinoza, 2008; Solís, 2018).

El consumo de quesos en México, es elevado en todos los niveles socioeconómicos, promovido, en parte, por la diversidad de quesos mexicanos tradicionales (más de 40), entre ellos Panela, Quesillo, Asadero, Chihuahua, Cotija, Adobera, Crema de Chiapas, Bola, etc. El queso artesanal mexicano es un alimento con historia y tradición que forma parte del legado cultural del país; son quesos tan diversos como heterogéneos en calidad, que compiten desventajosamente con quesos industriales y de imitación o con ingredientes sustitutos y análogos (Hervás, 2012).

Los consumidores, actualmente, demandan sabores únicos y comidas típicas, sin culpa de cocinar y comer, y una dieta cada vez más focalizada en el cuidado de la salud y acorde a sus necesidades y preferencias individuales (Sarkar & Costa, 2008). Los consumidores de este tipo de productos aceptan algunas innovaciones (etiquetado y envase) que no alteran la calidad sensorial y mejoran la apariencia y vida útil del producto; otro grupo de innovaciones están orientadas a productos más sanos y seguros, por ello, el sector agroindustrial invierte a través de ingredientes seleccionados, materia prima de mejor calidad y trazabilidad. Sin embargo, se busca que en este tipo de productos, las innovaciones no comprometan las propiedades sensoriales de los productos alimenticios tradicionales, como en los quesos mexicanos genuinos tradicionales (Kühne *et al.*, 2010).

Los productores de alimentos tradicionales enfrentan el desafío de mejorar la seguridad y conveniencia de sus productos, de acuerdo con la demanda de los consumidores mediante diferentes tipos de innovaciones que permiten mantener o expandir su influencia, en un entorno altamente competitivo y globalizado. Un

mejor entendimiento de los consumidores, de sus creencias, percepciones y expectativas es esencial para el desarrollo de productos e introducción de innovaciones, así como la implementación de acciones de marketing exitosas (Kristbergsson & Oliveira, 2016).

Dentro de los quesos genuinos mexicanos, quizá, uno de los más emblemáticos, es el Queso Bola de Ocosingo Chiapas, el cual posee características tecnológicas únicas, externamente posee una cubierta que sirve como empaque natural a base leche descremada y el centro es un queso crema madurado al menos por 21 días, de acuerdo con las reglas de uso de la marca colectiva. Un problema es la normativa que no permite la comercialización de quesos elaborados con leche cruda (NOM-243-SSA1-2010) y la baja valorización del consumidor con respecto a los atributos de estos productos. Los objetivos de esta investigación fueron, analizar las empresas queseras tradicionales a fin de evaluar las innovaciones adoptadas y su relación con la utilidad y el análisis de los consumidores y factores que influyen en la decisión de compra de este producto, para proponer estrategias que incrementen el posicionamiento de los quesos artesanales.

5.2. Metodología

5.2.1. Caracterización de la agroindustria (AI)

Se aplicaron encuestas estructuradas a las queserías: “El Dorado”, “Queshil”, “Laltic”, “Productos Ocosingo”, “Lácteos Maya” y “Santa Rosa”, con la finalidad de caracterizar y analizar la adopción de tecnología e innovaciones con las que cuentan cada una. La encuesta tuvo cuatro categorías: 1) Aspectos generales del productor, 2) organización, 3) Dinámica de la Agroindustria y 4) Dinámica de Innovaciones.

Adopción de Innovación

Los datos obtenidos de las encuestas fueron sistematizados en Microsoft[®] Excel[®] 2013; se calculó el índice de Adopción de Innovaciones (INAI), en el cual se expresan las innovaciones que realiza cada productor dentro del total de innovaciones, utilizando la siguiente ecuación (1) (Muñoz *et al.*, 2007).

$$INAI = \sum_{i=1}^j \left[\frac{\text{innovaciones realizadas por el innovador } i}{\text{máximo número de innovaciones por los productores } j} \right] * 100$$

(1)

Velocidad de adopción de innovación

Con el propósito de conocer la trayectoria de las innovaciones implementadas por las agroindustrias queseras, se calculó a través de los resultados de las encuestas, la velocidad de adopción de innovación con la siguiente ecuación (2) (Rendón *et al.*, 2007).

$$VA = \frac{\text{año de registro de la primera innovación} - \text{año más reciente de adopción}}{\text{porcentaje de productores adoptantes por año}}$$

(2)

Análisis económico

Se realizó considerando los costos generados con la producción y los ingresos totales en la unidad productiva (cantidad de queso producido multiplicada por el precio corriente). Los beneficios fueron estimados con la ecuación (3) (Espejel *et al.*, 2016):

$$B = \sum_{t=1}^n IT - \sum_{i=1}^n CT \quad (3)$$

Donde:

B= Beneficios o ganancias económicas de la actividad

IT= Suma de los ingresos totales de la unidad productiva de 1 hasta n.

C= Suma de los costos de producción incurridos en la unidad productiva de 1 hasta n.

Análisis estadístico

La información obtenida de las encuestas fue organizada y registrada en una base de datos en Microsoft® Excel® 2013, para su posterior análisis. Primero se realizó un análisis de correlación de Pearson para identificar las variables (Calidad, Estandarización del proceso, Manejo de residuos, Estrategia comercial y utilidades) que tienen relación con las ganancias económicas.

Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) para identificar las variables que influyen en las queserías para que obtengan ganancias económicas, los datos se analizaron con el paquete estadístico XLSTAT 5.03, 2014.

5.2.2. Caracterización del consumidor de Queso Bola

Se aplicaron cien encuestas a consumidores del Queso Bola en dos puntos estratégicos, en la Feria del Queso Bola 2017 en Ocosingo Chiapas y en la Feria

de la Cultura Rural en Texcoco Estado de México. Los criterios de selección para las encuestas fueron: consumidor del queso Bola y mayoría de edad. También se incluyeron variables que permitieron definir el perfil sociodemográfico de los consumidores potenciales del queso (edad, nivel de ingresos, ocupación, lugar de origen, sexo, estado civil, etc.) y hábitos de consumo como: percepción del queso, frecuencia de consumo, marca preferida, lugar frecuente de compra, cuánto paga por su producto, etc.

Se realizó una regresión logística para obtener las variables de mayor influencia con relación a la disposición a pagar por el Queso Bola y un análisis de componentes principales (ACP) para identificar las variables que influyen en la decisión de compra y que los consumidores valoran; los datos se analizaron con el paquete estadístico XLSTAT.5.03, 2014.

5.3. Resultados y discusión

5.3.1. Caracterización de la agroindustria

Problemática de la agroindustria quesera

Uno de los principales problemas establecidos por el 60% de los productores del Queso Bola es el desabasto de leche, principalmente en la época de estiaje. Este hecho afecta aquellos que no producen su materia prima y dependen exclusivamente de la oferta y demanda y otros se ven en la necesidad de comprar leche en polvo (el 15%) afectando a la genuinidad y tipicidad del Queso Bola.

Pese a la importancia cultural del Queso Bola, existe de manera constante la presión sobre los queseros por modificar la tipicidad de sus productos, impulsado por las instituciones gubernamentales que establecen requerimientos sobre la calidad en los procesos de producción de quesos: la NOM-243-SSA1- 2010; la NOM-251-SSA-2009, la Secretaría de Salud, la NOM-051-SCFI-SSA1-2010 y la NMX-713-COFOCALEC-2005, oficialmente regulan la calidad mínima necesaria para elaborar y comercializar los quesos producidos en México. Pese a que ya existen estudios en quesos tradicionales genuinos mexicanos donde se

demuestra la inocuidad del queso y la disminución de la microbiota de los mismos como es el caso del Queso Cotija e incluyendo al Queso Bola, siendo quesos elaborados con leche cruda; falta entendimiento y sensibilización de las instituciones correspondientes para que le den la importancia necesaria a estos quesos (Escobar *et al.*, 2012; López, 2013; Hernández, 2014).

Los cambios en los hábitos de consumo, el ritmo y modo de vida de la sociedad resultan en la alteración de la producción de alimentos a nivel mundial, es decir, cambian por completo las fronteras alimentarias, y se homogeneiza y monopoliza la alimentación de manera industrial y también la población demanda productos con propiedades funcionales específicas (Vendruscolo *et al.*, 2016; Solís, 2018).

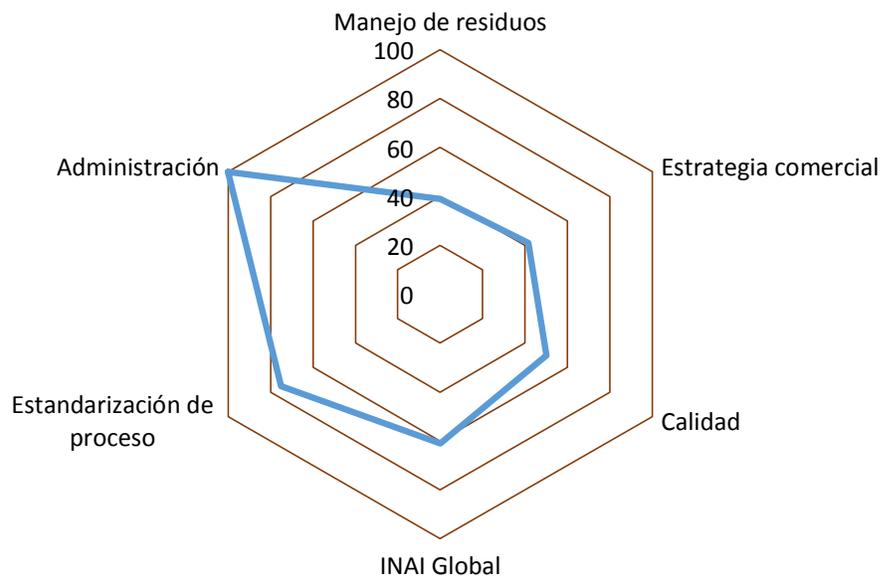
Los consumidores son el factor más importante, cada vez son más los que prefieren productos genuinos tradicionales y prestan mayor atención a la procedencia geográfica de los productos, y se preocupan por determinadas características presentes en los productos que adquieren. En ocasiones, el lugar de origen sugiere a los consumidores que el producto tendrá una calidad o características sensoriales específicas que confieren atributos de mayor valoración para un grupo de consumidores. A menudo, los consumidores están dispuestos a pagar más por estos productos, favoreciendo mercados específicos para productos con determinadas características vinculadas a su lugar de origen (Rizo *et al.*, 2013).

Adopción de innovaciones en la agroindustria quesera

La innovación en productos artesanales debe introducirse de manera cuidadosa y creativa, ya que un cambio en el proceso de estos productos podría no ser el más adecuado para el consumidor que valora lo artesanal y típico de estos productos tradicionales. Para el análisis del índice de adopción de innovaciones se consideraron las categorías: producción (Calidad), Estandarización del proceso, Manejo de residuos, Estrategia Comercial y Utilidades. La Figura 5.3.1 muestra que la categoría de mayor adopción de innovación durante los últimos años para la AI es Administración, ya que el 100 % de los productores cuentan

con registros manuales de sus operaciones y en segundo lugar Estandarización del proceso, porque el 50 % de los productores respetan lo estipulado en las Reglas de Uso para la Marca Colectiva “Queso Bola de Ocosingo, Chiapas”. Para esta última categoría se consideraron las variables, leche cruda, tiempo de maduración del queso, sin aditivos (excepto sal y cuajo) y la elaboración del forro.

Las categorías que se encontraron por debajo del 50 % de adopción corresponden a calidad, estrategia comercial y manejo de residuos, por lo que se atribuye a un bajo interés de los productores en estas innovaciones. En el caso de estrategia comercial es necesario profesionalizar y promover de manera más eficiente el producto, de manera paralela es necesario informar al consumidor sobre las bondades del Queso Bola más allá del consumo y del aspecto tangible. La diferenciación a partir de etiquetas con información sobre aspectos culturales del producto podría contribuir a una mayor diferenciación.



Fuente: Elaboración con base en datos generados, 2017.

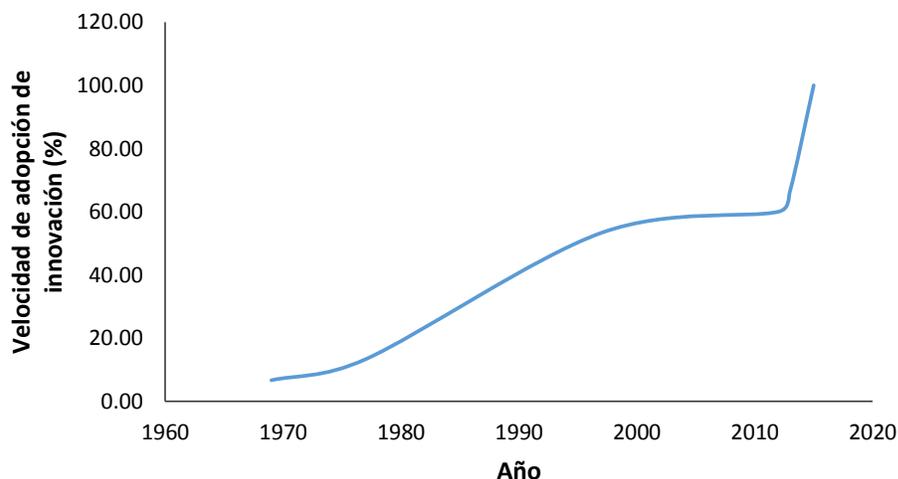
Figura 5.3.1. Categorías para adopción de innovaciones en la agroindustria del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas.

Con respecto a los atributos sensoriales, el queso Bola posee características únicas, la forma en que lo elaboran, el proceso de maduración y los recursos naturales asociados, así como la ubicación geográfica, confieren rasgos típicos: olor, sabor, color, consistencia que lo diferencian de los demás quesos madurados. Sin embargo, la valoración que el consumidor le da al producto es baja aunado a débiles estrategias de promoción de los productores.

El queso es elaborado por un grupo reducido de queseros artesanales, quienes han heredado y conservado el saber hacer de este queso por generaciones, conservando la identidad, tipicidad y tradicionalidad. Por otro lado, en los mercados locales se comercializa Queso Bola de diversas calidades, con variaciones que afectan la tipicidad, tales como disminución del tiempo de maduración, forro más fresco y en casos extremos la adición de leche en polvo, resultando un producto más fresco, y sensorialmente diferente y perdiendo parte de lo genuino y típico. Esto coincide con el porcentaje bajo en la adopción de innovaciones del queso, pues la mayoría de las queserías no respetan la reglas de uso de la Marca Colectiva para la elaboración del Queso Bola lo que demerita su valoración (Cervantes *et al.*, 2008; Pomeón, 2011).

Velocidad de adopción de innovación de la agroindustria

Se calculó para conocer la velocidad con la que los productores aprenden y adoptan innovaciones durante el tiempo. Lo cual está relacionado directamente con la capacidad de adaptación de las empresas al entorno y tendencias de consumo. En la Figura 5.3.2, se destacan dos etapas, la primera que va de 1969 a 2012 y la segunda que va de 2012 a 2017.



Fuente: Elaboración con base en datos generados, 2017.

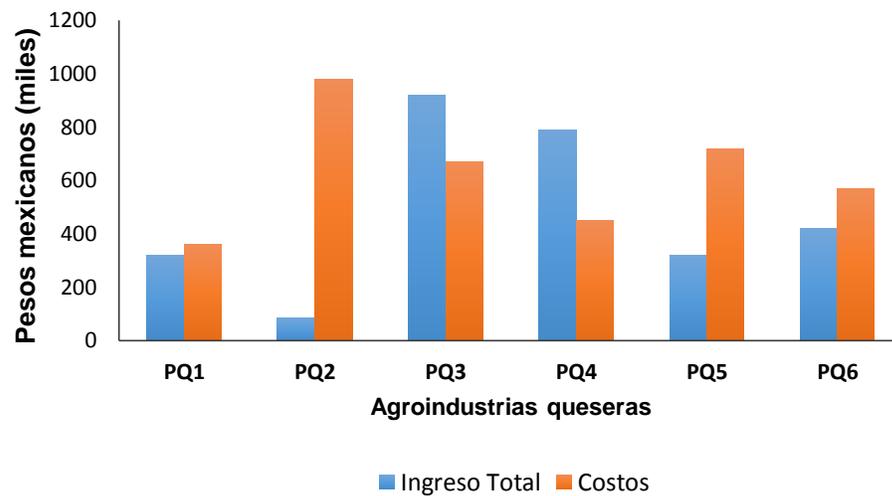
Figura 5.3.2. Velocidad de innovación de la AI del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas.

En la primera fase, se aprecia que las innovaciones que se han introducido, se relacionan con la mejora del proceso y la integración de equipos y trazabilidad de la materia prima, es decir se puede asociar como una etapa de fortalecimiento de lo típico y tradicional. En la segunda etapa, se aprecia una mayor rapidez en adoptar innovaciones relacionadas con mayores exigencias del mercado y entorno, tales como las buenas prácticas de producción, introducción de innovaciones de cuidado ambiental como manejo del lactosuero y la necesidad de vincular el queso con mercados de mayor valor. Implicó mejorar la estrategia comercial, utilizando las redes sociales y mayor participación en ferias para promocionar al Queso Bola.

Análisis económico de las queserías del Queso Bola

El análisis económico de las agroindustrias (Figura 5.3.3) es un indicador que muestra de manera general las utilidades derivadas de la producción quesera y puede representar la continuidad o no de la producción de este queso. El análisis indica que el 33 % de las queserías tienen mayor ingreso con respecto a los costos asociados a la producción del queso, por lo que podría asumirse mayor

rentabilidad, el resto puede ser que presente utilidades negativas, sin embargo, es posible que para este grupo de queseros la actividad representa una parte complementaria.

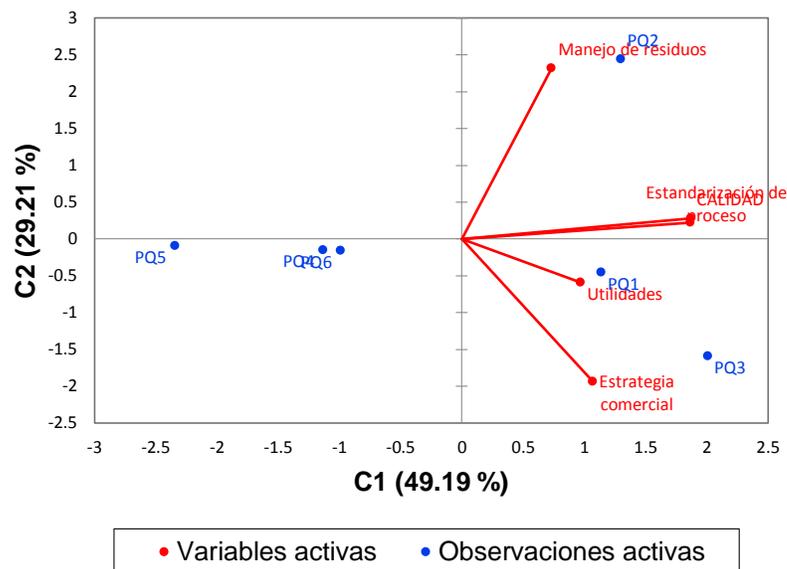


PQ1 (El Dorado), PQ2 (Qeshil), PQ3 (Laltic), PQ4 (Productos Ocosingo), PQ5 (Lácteos Maya).
Fuente: Elaboración con base en datos generados, 2017.

Figura 5.3.3. Análisis económico de las queserías del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas.

Las queserías con mayores utilidades están vinculadas a mercados más estables y de mayor valor, por lo que el precio al que comercializan su producto es más alto, en comparación con el resto de las queserías quienes muestran incluso pérdidas. La quesería (PQ3) posee un nivel de integración elevado y, por lo tanto, poseen mayor control sobre la materia prima y esto confiere una mayor calidad del queso. Por otro lado, la PQ4, no produce su propia leche, además, cuenta con un mercado específico el cual ya es garantía para la venta de sus quesos (Aeropuerto Internacional Ángel Albino Corzo, Chiapa de Corzo, Chiapas).

Derivado al ACP se obtuvo que con dos componentes se explican el 78 % de la variabilidad de los datos (KMO¹ de 0.5). La Figura 5.3.4 muestra las variables analizadas se distribuyen en dos grupos con alta afinidad al interior de ellos, en el primer grupo las variables de mayor peso son estandarización del proceso, calidad y manejo de residuos (proceso), en el segundo grupo se ubica la estrategia comercial y utilidades, lo cual sugiere que aquellas empresas que ponen mayor énfasis en el mercado y los consumidores tienen mejores utilidades.



PQ1 (El Dorado), PQ2 (Queshil), PQ3 (Laltic), PQ4 (Productos Ocosingo), PQ5 (Lácteos Maya) y PQ6 (Santa Rosa).

Figura 5.3.4. Variables de adopción e innovación en seis queserías en Ocosingo, Chiapas.

¹ La prueba de Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) es una medida de cuán adecuados son sus datos para el **análisis de factores**. La prueba mide la adecuación del muestreo para cada variable en el modelo y para el modelo completo. Contrasta si las correlaciones parciales entre las variables son suficientemente pequeñas. Permite comparar la magnitud de los coeficientes de correlación observados con la magnitud de los coeficientes de correlación parcial. EL estadístico KMO varía entre 0 y 1. Los valores pequeños indican que el análisis factorial puede no ser una buena idea, dado que las correlaciones entre los pares de variables no pueden ser explicadas por otras variables. Los menores que 0.5 indican que no debe utilizarse el análisis factorial con los datos muestrales que se están analizando (Fernández, 1999)

La posición competitiva de las empresas queseras con respecto a los dos componentes principales permite diferenciar que en el componente 1 (C1) las variables de mayor peso son calidad y estandarización del producto y con respecto al componente 2 (C2) la variable de mayor peso es la del manejo de residuos (Cuadro 5.3.1), siendo los factores que dan mayores ganancias en las queserías.

Cuadro 5.3.1. Cargas factoriales de los componentes.

Variable	C1	C2
Calidad	0.947	0.110
Estandarización de proceso	0.944	0.087
Manejo de residuos	0.371	0.904
Estrategia comercial	0.541	-0.755
Utilidades	0.491	-0.231

Fuente: elaboración propia con base en datos generados, 2017.

De acuerdo con los resultados, en este grupo de queserías las ganancias (utilidades) de las queserías tiene relación directa con la adopción de innovaciones, lo cual sugiere que las innovaciones evaluadas contribuyen de manera sustancial con este modelo de queserías principalmente las relacionadas con estrategia comercial, manejo de residuos, conservación del proceso de producción y el manejo de residuos; incluso las de mejor posicionamiento muestran fuerte relación con una estrategia comercial basada en la identificación de necesidades del consumidor y nuevos mercados.

Las variables relacionadas con la estandarización del proceso y calidad están altamente correlacionadas e influyen en la posición de las queserías. Un aspecto relevante es que todas las queserías no consideran importante el análisis del consumidor y del mercado aunque ello pueda implicar una mejor posición en el mercado.

Con relación a las Reglas de Uso de la Marca Colectiva, buena parte de los queseros no las respeta, obteniendo calidades distintas en los productos,

demostrando así la baja organización de los productores del Queso Bola y por lo tanto una marginal alternativa de que este producto pueda acceder a otro tipo de protección o indicación geográfica, pese a ser un buen candidato.

5.3.2. Caracterización del consumidor actual y potencial del Queso Bola

Características sociodemográficas de los consumidores

Es posible que las queserías de tamaño pequeño y mediano se vean limitadas en la fortaleza de la relación que establecen con sus clientes y sobre todo que entiendan sus necesidades. Los resultados derivados del análisis, indican que los consumidores son personas adultas, en edad laboral, en un rango de edad entre los 20 a 79 años, de los cuáles el 40 % poseen un nivel de escolaridad básica y media superior, un 50 % con estudios universitario y un 10 % con estudios de posgrado.

Características socioeconómicas de los consumidores

Con respecto al análisis socioeconómico de los consumidores, se clasificaron en tres estratos con relación al nivel de ingresos mensuales. La clasificación por estratos se muestra en el Cuadro 5.3.2, con respecto al ingreso mensual y la escolaridad de los consumidores. Pese a que el 50 % de los encuestados tienen un grado universitario el 30% de la población se encuentra en el estrato 1, esto se debe a que muchos perciben un salario muy bajo o no ejercen su profesión, percibiendo sueldos bajos. En el estrato 3 con un 7 % de participación se encuentran los consumidores con estudios de Posgrado, ya que cuentan con trabajos estables, trabajan por su cuenta, son empleados de dependencias diferentes al gobierno, quienes perciben un salario mayor a los consumidores de otros estrados.

Cuadro 5.3.2. Clasificación por estratos de acuerdo al nivel de ingresos mensual y escolaridad de los consumidores.

Variable	Estrato (Bajo) (<\$5,000/mes)	Estrato 2 (Medio) (\$5,001-\$10,000/mes)	Estrato 3 (Alto) (>\$10,000/mes)
Con posgrado (%)		3	7
Estudios superiores (%)	30	13	7
Media superior (%)	19	6	
Básica (%)	10	1	3
Edad (años)	34	38	43
<i>Consume queso por:</i>			
Apariencia (%)	46	22	12
Inocuidad (%)	80		20
Identidad (%)	54	29	18
Tradición (%)	65	22	13

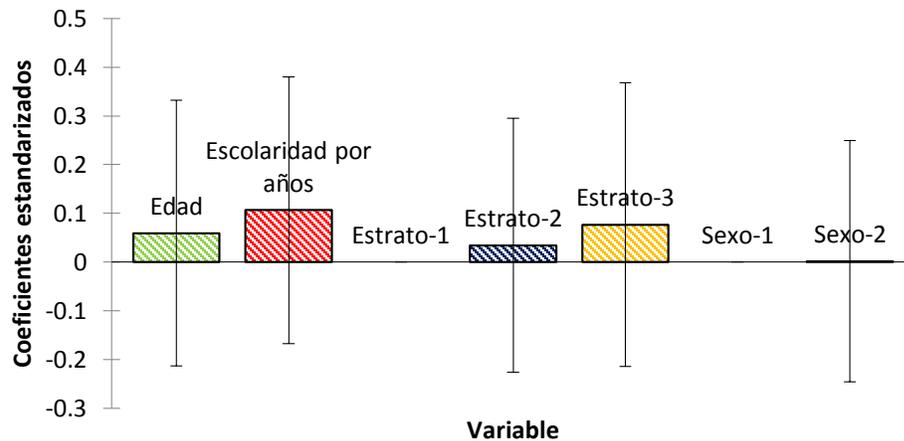
Fuente: Elaboración propia con base en datos generados, 2017.

Con relación a la edad, los consumidores del estrato alto se caracterizan por tener mayor edad comparada con los otros dos estratos, lo cual repercute en decisiones más sólidas al momento de elegir los productos a consumir, principalmente del tipo tradicional. Con respecto a la inocuidad del producto los consumidores del estrato bajo y alto lo consideran importante. El consumo de este producto asociado a la identidad, tradición y apariencia es importante para los tres estratos, lo que significa que el consumidor de este queso está informado sobre aspectos intangibles asociados al producto y lo consume por sus características de tipicidad.

Variables que inciden en la disposición a pagar

Con base en el análisis de regresión logística la Figura 5.3.5 reporta las variables de mayor influencia con relación a la disposición a pagar por el Queso Bola. Las variables de mayor incidencia son la escolaridad, edad y nivel de escolaridad del estrato 3 (mayor ingreso y mayor nivel de estudios). Estas variables son las que influyen en una mayor disposición a pagar por un queso artesanal, lo cual está

relacionado directamente con mayor nivel de ingreso y nivel educativo, esto se podría asociar con mayor conocimiento y valorización de un producto tradicional, considerando las características asociadas, tales como recursos naturales, cultura, tradición y saber hacer. Adicionalmente, la acción colectiva construida por actores involucrados ha permitido mediante la creación de una marca colectiva y reglas de uso una mayor valorización de este producto.



Fuente: Elaboración propia con base en datos generados, 2017

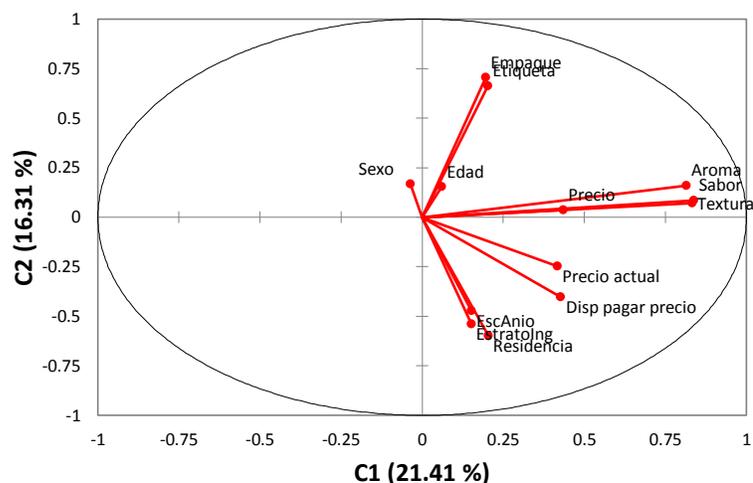
Figura 5.3.5. Variables que influyen para la disposición a pagar por el Queso Bola.

Existe una clara competitividad de los productos alimenticios tradicionales con respecto a los industriales, estos alimentos ofrecen comodidad a un precio económico para la mayoría de los consumidores. Son productos que están estandarizados, ofrecen calidad constante todos los días y la mayoría son quesos frescos. Generalmente se producen a gran escala por grandes empresas en cualquier lugar del mundo y los productores pueden tener casi el mismo producto final. Caso contrario con los quesos tradicionales, como el Queso Bola de Ocosingo, Chiapas que son productos hechos a mano y producidos en el territorio de origen (con características propias de recursos humanos, entorno geográfico, naturaleza, clima, la raza del animal, y, por tanto, son testimonio de la historia, cultura, estilo de vida de la comunidad rural y entorno geográfico en donde se producen. Este tipo de queso que se caracteriza por sus sabores intensos y

distintivos, con una variabilidad razonablemente alta incluso dentro de la variedad del mismo queso (Licitra, 2010).

Un grupo reducido de consumidores que comparte características específicas, valora este tipo de productos; sin embargo, existe evidencia acerca del desconocimiento para la mayoría de los consumidores sobre los atributos de los quesos tradicionales, diferenciados por su calidad de origen. Es decir, los consumidores que adquieren alimentos similares a los quesos mexicanos tradicionales siguen sin conocer su variedad o existencia, como es el caso del Queso bola de Ocosingo (Agudelo-López *et al.*, 2016).

Para asociar los atributos del Queso Bola que el consumidor valora y los grupos de consumidores, se realizó un ACP, donde se obtuvo que seis componentes explican el 75% de la variabilidad de los datos ($KMO = 0.6$) los factores que consideran los consumidores en el consumo de este queso. En la Figura 5.3.6 se observan las variables en grupo como: el sabor, aroma y textura (características sensoriales), en el segundo la etiqueta y empaque, en el tercero el nivel de ingresos, escolaridad y lugar de residencia, en el cuarto precio, en el quinto género y sexto la edad. Estas son las variables que inciden en la decisión del consumidor para adquirir el producto.



Fuente: Elaboración propia con base en datos generados, 2017.

Figura 5.3.6. Variables que influyen en la decisión de compra en los consumidores.

La posición de los consumidores con respecto a los dos componentes permite diferenciar en el componente 1 (C1) las variables de mayor peso que son aroma, textura y sabor y con respecto al componente 2 (C2) empaque y etiquetado.

En los últimos años se ha observado un creciente interés de los consumidores en productos alimenticios más diferenciados, en este contexto, los TFP, representan una alternativa de consumo saludable y esto se asocia al hecho de que los consumidores son cada vez más reacios a los riesgos inducidos por la innovación alimentaria como resultado de la intervención humana; sin embargo, el desarrollo de TFP es necesario para la supervivencia del producto en un mercado global competitivo (Stolzenbach, Bredie, & Byrne, 2013; Vanhonacker *et al.*, 2013)

Los TFP representan un segmento en crecimiento en el mercado alimentario, sin embargo, para mantenerse en el mercado actual, deben innovar y mejorar la forma de llegar a los consumidores, pero más importante informar al mercado sobre los atributos de este tipo de productos. Cuanto más estrictamente los consumidores definen los alimentos tradicionales, más influye su aceptación en el impacto percibido de la innovación en el carácter tradicional del producto alimenticio (Vanhonacker, Kühne, Gellynck, Guerrero, Hersle & Verbke, 2013). La aceptación por parte de los consumidores de las etiquetas con garantía de origen y mayor variedad de productos corresponde a los esfuerzos del sector para ingresar a nuevos mercados y mejorar la comercialización de sus productos alimenticios tradicionales (Kühne *et al.*, 2010). Un factor importante para la aceptación de innovaciones y que beneficien a los productores del Queso Bola implica reforzar las características tradicionales del producto (etiqueta que garantice el origen) o que brinden beneficios al mejorar los atributos negativos asociados con características tradicional de los alimentos (resaltar que es un producto madurado, genuino, sin aditivos).

Por otro lado, el productor tradicional debe tener una comprensión clara de las características que los consumidores buscan en el TFP (Kühne *et al.*, 2010). Ya que el consumidor exige una relación más cercana con el productor de su comida,

ya sea real (la compra directa en el lugar de origen), o imaginaria (a través de un etiquetado con datos de su origen, elaboración e identidad), pues simbólicamente estos datos le representen cualidades intangibles y ayudan a compensar la distancia entre el consumidor del producto y la fuente del alimento (Bessiere, 1998). Tal es el caso del estrato 3 que tienen la disposición de pagar mejor el Queso Bola, además otra característica singular es que son consumidores que difícilmente pueden acceder al producto en su lugar de origen, por lo que sería necesario trabajar con los productores en mejorar la información plasmada en la etiqueta y que ellos mismos valoricen más su producto, ya que la mayoría vende su producto sin etiquetas, demeritando así la calidad de producto tradicional.

5.4. Conclusiones

La adopción de innovaciones mostrada por las empresas queseras es alto (61.1%) considerando que son de corte artesanal, la mayor adopción se encuentra en las innovaciones referidas a administración y control del proceso. Los menores niveles de adopción de innovaciones se presentan en manejo de residuos, estrategia comercial y calidad.

La relación que tiene la innovación con la posición competitiva de las empresas muestra que el mejor desempeño lo tienen las empresas que adoptan innovaciones de conservación del proceso artesanal del queso y manejo de residuos. Otro grupo de empresas se ve fortalecido por la estrategia comercial lo cual repercute directamente en las utilidades.

Existen posibilidades de introducir innovaciones en los quesos Bola de Ocosingo, Chiapas sin disminuir su principal ventaja competitiva como sus rasgos característicos de la forma de elaboración, apariencia, y en especial las características relacionadas con la autenticidad y genuinidad del producto. Tal sería el caso de mejorar la etiqueta principalmente y de preservar las características de elaboración del queso, respetando lo que marcan las Regla de

Uso de la Marca Colectiva, para mantener la calidad de los quesos (maduración, forrado oreado, sin otros aditivos distintos al cuajo y sal).

Con respecto a los atributos del Queso bola, es destacable que los consumidores con mayor nivel de escolaridad e ingresos son los que resultan en una mayor disposición a pagar más por el queso. Los atributos que más valoran los consumidores de este producto son el empaque y la etiqueta y por otra parte atributos sensoriales como el aroma, sabor y textura.

La estrategia más adecuada que los productores de queso pueden implementar es ya una vez que se identificó al consumidor potencial, emprender una campaña de promoción del producto resaltando atributos sensoriales e intangibles como la cultura e identidad.

5.5. Agradecimientos

Al CONACYT, México y la Universidad Autónoma Chapingo por el apoyo financiero y la oportunidad de realizar esta investigación.

A los Productores del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas que participaron en esta investigación.

5.6. Literatura citada

- Agudelo-López, M. A., Cesín-Vargas, A., & Thomé-Ortíz, H. (2016). Alimentos Emblématicos Y Turismo. La Vinculación Del Queso Bola De Ocosingo Con La Oferta Turística Regional. *Agricultura, Sociedad Y Desarrollo*, 13(1), 131–149. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=360545634008>
- Bessiere, J. (1998). Local Development and Heritage: Traditional Food and Cuisine as Tourist Attractions in Rural Areas. *Sociologia Ruralis*, 38(1), 21–34. <http://doi.org/10.1111/1467-9523.00061>
- Barham, E., Sylvander, B. (Eds.), 2011. Labels of Origin for Food: Local Development, Global Recognition. CAB International.
- Cervantes, E. F., Villegas, G. A., Cesín, V. A. y Espinoza, O. A. (2008). Los quesos mexicanos genuinos: Patrimonio cultural que debe rescatarse. Primera edición. MUNDI-PRENSA MÉXICO. México. 186 p.
- Hervás S. A. (2012). El mercado del queso en México. Oficina Económica y Comercial de la Embajada de España en México.
- Escobar R., M. C., Hernández, I. M. y Gaspar, S. D. (2012). Composición fisicoquímica y microbiológica del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas. En Memorias XXXVI Congreso Nacional de Buiatría.
- Espejel-García, A., Barrera-Radríguez, A., Herrera-Cabrera, B. E., & Cuevas-Reyes, V. (2016). Factores Estructurales en la construcción del sistema regional de innovación de vainilla (*Vainilla planifolia* Jacks ex Andrews) en México. *Agroproductividad*, Año 9, Vol(ISSN-0188-7394), 74–78.
- Espejel G. A., Ramírez G. A. G., M.-R. E. (2017). Empleo e innovación en la producción de queso añejo en el municipio de Zacazonapan. *Research Gate*, (October), 205–232.
- Guerrero L., Claret A., Verbeke W., Sulmont-Rossé C., Hersleth M., (2016). Innovation in traditional food products: does it make sense? Innovation Strategies in the Food Industry. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803751-5.00005-2>
- Kristbergsson, Kristberg; Oliveira, J. (2016). *Traditional foods: General and Consumer Aspects*. <http://doi.org/10.1007/978-1-4899-7648-2>
- Kühne, B., Vanhonacker, F., Gellynck, X., & Verbeke, W. (2010). Innovation in traditional food products in Europe: Do sector innovation activities match consumers' acceptance? *Food Quality and Preference*, 21(6), 629–638. <http://doi.org/10.1016/j.foodqual.2010.03.013>
- Muñoz, R. M., Altamirano, C. J. R., Aguilar, Á. J., Rendón, M. R., & Espejel, G. A. (2007). *Innovación: motor de la competitividad agroalimentaria. Políticas y estrategias para que en México ocurra*. UACH - CIESTAAM.
- Marsden, T., 1998. New rural territories: regulating the differentiated rural space. *J. Rural Space* 14 (Issue), 107_117.

- Poméon T. (2011). De la retórica a la práctica del patrimonio: procesos de calificación de los quesos tradicionales mexicanos. Tesis para obtener el grado de Doctor en problemas económico-agroindustriales. CIESTAAM-UACH. México
- Rendón M. R.; Aguilar Á. J.; Muñoz R. M.; Altamirano C. J. R. (2007). Identificación de actores clave para la gestión de la innovación: el uso de redes sociales.
- Rizo, M. P., Frigant, N., & Jalba, V. (2013). Las indicaciones geográficas, 44. Retrieved from http://www.wipo.int/edocs/pubdocs/es/geographical/952/wipo_pub_952.pdf
- Sarkar, S., & Costa, A. I. A. (2008). Dynamics of open innovation in the food industry. *Trends in Food Science and Technology*, 19(11), 574–580. <http://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.09.006>
- Fernández, S. de la F. (1999). Análisis de Componentes Principales. *Proyecto E-Math Financiado Por La Secretaría de Estado de Educación Y Universidades (MECD)*, 141–151. <http://doi.org/10.1016/j.infsoc.2008.09.005>
- Stolzenbach, S., Bredie, W. L. P., & Byrne, D. V. (2013). Consumer concepts in new product development of local foods: Traditional versus novel honeys. *Food Research International*, 52(1), 144–152. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.030>
- Trichopoulou A., Vasilopoulou E., Georga K., Soukara S and Dilis V., (2006) Traditional foods: Why and how to sustain them. *Trends in food Science and Technology* 17, 498-504. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.03.005>
- Vanhonacker, F., Kühne, B., Gellynck, X., Guerrero, L., Hersleth, M., & Verbeke, W. (2013). Innovations in traditional foods: Impact on perceived traditional character and consumer acceptance. *Food Research International*, 54(2), 1828–1835. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.10.027>
- Vendruscolo, R., Tomé da Cruz, F., & Schneider, S. (2016). (Re) Valorización de los alimentos de la agricultura familiar: Límites y particularidades de las estrategias agroalimentarias en el estado de Rio Grande Do Sul, Brasil. *Agroalimentaria*, 22(42), 149–169. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=199245407009>
- Villegas G. A. Z., Santos M. A. y Cervantes E. F., (2016). Los quesos mexicanos tradicionales. 1ª. Edición. Universidad Autónoma Chapingo. 197 p

CONCLUSIONES GENERALES

El desarrollo de las bacterias ácido lácticas (BAL) en la maduración del queso permite conocer la calidad microbiológica y la calidad de elaboración del Queso Bola de Ocosingo, Chiapas (QBO), ya que influyen en las características del queso, desde la calidad de la materia prima, las condiciones y por supuesto el saber-hacer y la experiencia de los maestros queseros.

Durante la maduración del Queso Bola, caso contrario a lo que sucede con la cuenta de BAL, la concentración de péptidos de bajo peso molecular incrementa, lo que representa mayor actividad biológica. Lo cual coincide con los resultados de actividad antihipertensiva, a mayor tiempo de maduración se obtuvo mayor actividad. Demostrando una vez más que la forma tradicional y artesanal de elaboración de los quesos, si influye en su composición.

Las empresas queseras que muestran mejor desempeño se relacionan con la adopción de innovaciones de conservación del proceso artesanal del queso y manejo de residuos. Otro grupo de empresas se ve fortalecido derivado de la estrategia comercial, que incide directamente en las utilidades. Los consumidores con mayor nivel de escolaridad e ingresos son los que resultan en una mayor disposición a pagar por el queso. Los atributos que más valoran del QBO son el empaque y la etiqueta y por otra parte atributos sensoriales como el aroma, sabor y textura

Una estrategia que deben implementar los productores del queso, una vez que se identificó al consumidor potencial, es una mayor promoción y difusión del queso, resaltando atributos sensoriales, funcionales como la presencia de péptidos con actividad antihipertensiva y aspectos intangibles como la tradición identidad e historia.