



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

POSGRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

**CARACTERIZACIÓN DEL QUESO PANELA OREADO DE
SOYATLÁN, JALISCO**

Que como requisito parcial
para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA**



Presenta:

GUILLERMO PÉREZ ESTEBAN

DIRECCION GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PROFESIONAL

Bajo la supervisión del: M.C. Abraham Villegas de Gante



Chapingo, Estado de México, febrero de 2017

CARACTERIZACIÓN DEL QUESO PANELA OREADO DE SOYATLÁN, JALISCO

Tesis realizada por **Guillermo Pérez Esteban** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

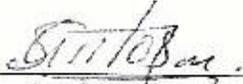
MAESTRO EN CIENCIAS

EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

Director


M.C. Abraham Villegas de Gante

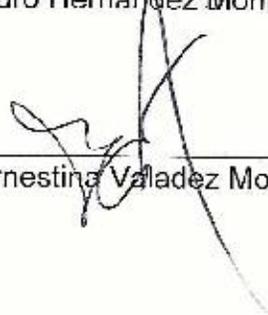
Co-director


M.C. Armando Santos Moreno

Asesor


Dr. Arturo Hernández Montes

Asesora


Dra. Ernestina Valadez Moctezuma

ÍNDICE

ÍNDICE	iii
LISTA DE CUADROS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
ABREVIATURAS	xii
DEDICATORIAS	xiv
AGRADECIMIENTOS	xv
DATOS BIOGRÁFICOS	xvii
RESUMEN	18
ABSTRACT	18
I INTRODUCCIÓN	19
1.1 Objetivo general	21
1.2 Objetivos específicos	21
1.3 Hipótesis	22
II MARCO DE REFERENCIA	23
2.1 Situación mundial de producción de leche de vaca	23
2.2 Situación de producción de leche en México	24
2.3 Situación de la quesería nacional	26
2.4 Quesos mexicanos genuinos	28
2.4.1 Tipicidad de quesos mexicanos genuinos	29
2.4.2 Identidad territorial	30

2.5 Caracterización de quesos	31
2.6 Evaluación sensorial de quesos	32
2.6.1 Análisis sensorial descriptivo	32
2.7 Análisis microbiológico en quesos	34
2.7.1 <i>Salmonella spp.</i> , en quesos de leche cruda	36
2.7.2 <i>Staphylococcus aureus</i> en quesos de leche cruda	37
2.8 Identificación genotípica de levaduras presentes en queso panela oreado	38
2.8.1 Espacio interno transcrito (ITS)	38
2.9 Perfiles moleculares en quesos	39
2.9.1 ISSR	39
2.10 Ubicación y descripción de área de estudio	40
2.11 Lechería y queso panela oreado	43
BIBLIOGRAFÍA	44
III EL SISTEMA AGROINDUSTRIAL LECHE - QUESO PANELA DE SOYATLÁN, JALISCO	56
Resumen	56
Abstract	56
3.1 INTRODUCCIÓN	57
3.2 MATERIALES Y MÉTODOS	59
3.2.1 Sistema agroindustrial (SAI)	59
3.2.2 Características de la leche usada para la elaboración del queso	59
3.2.3 Proceso tecnológico del queso panela oreado	60
3.2.4 Análisis estadístico	60

3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	61
3.3.1 Características de las explotaciones lecheras	61
3.3.2 Sistema Agroindustrial Leche – Queso Panela Oreado	62
3.3.3 Características de las queserías	66
3.3.4 Calidad de la leche en quesería	68
3.3.5 Proceso de hechura del queso panela de Soyatlán, Jalisco	71
3.3.6 Elementos para un análisis FODA en el queso panela oreado	81
3.4 CONCLUSIONES	84
3.5 BIBLIOGRAFÍA	85
IV CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y SENSORIAL DEL QUESO PANELA DE SOYATLÁN, JALISCO	90
Resumen	90
Abstract	90
4.1 INTRODUCCIÓN	91
4.2. MATERIALES Y MÉTODOS	93
4.2.1 Muestreo	93
4.2.2 Análisis del queso panela oreado	94
4.2.3 Análisis microbiológico general	94
4.2.4 Evaluación sensorial de los quesos	96
4.2.5 Análisis estadístico	97
4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	99
4.3.1 Queso	99

4.4 CONCLUSIONES	118
4.5 BIBLIOGRAFÍA	119
V IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE LEVADURAS PRESENTES EN QUESO PANELA DE SOYATLÁN, JALISCO	126
Resumen	126
Abstract	126
5.1 INTRODUCCION	127
5.2 MATERIALES Y MÉTODOS	130
5.2.1 Aislamiento y caracterización morfológica	130
5.2.2 Análisis molecular	131
5.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	137
5.3.1 identificación de levaduras aisladas en queso panela oreado	137
5.3.2 Amplificación de la región ITS	145
5.4 CONCLUSIONES	159
5.5 BIBLIOGRAFÍA	160
ANEXOS	166

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Perfil de los queseros encuestados de seis queserías de Soyatlán, Jalisco _____	67
Cuadro 2. Composición de la leche para la elaboración del queso panela oreado de Soyatlán (por época). _____	69
Cuadro 3. Algunos aspectos del proceso de hechura del queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco. _____	74
Cuadro 4. Diluciones, medios de cultivo y normas aplicadas en el muestreo del queso panela de Soyatlán, Jalisco. _____	95
Cuadro 5. Análisis proximal del queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco. _____	100
Cuadro 6. Interacción de los factores quesería y época del año para la variable pH. _____	102
Cuadro 7. Interacción de los factores quesería y época del año para la variable BMA. _____	103
Cuadro 8. Interacción de los factores quesería y época del año para la variable CT. _____	104
Cuadro 9. Interacción de los factores quesería y época del año para la variable levaduras. _____	104
Cuadro 10. Interacción de los factores quesería y época del año para la variable <i>Staphylococcus aureus</i> . _____	109
Cuadro 11. Descriptores sensoriales, definiciones y referencias para evaluar queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco. _____	110
Cuadro 12. Comparación de medias de los descriptores sensoriales de quesos panelas oreados de Soyatlán, Jalisco. _____	111
Cuadro 13. Carga de correlación de los pesos de los dos componentes principales de los atributos sensoriales del queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco. _____	117
Cuadro 14. Código de cepas aisladas de queso panela oreado en dos temporadas. _____	131
Cuadro 15. Primers ISSR utilizados para genotipificar las levaduras aisladas en queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco. _____	134
Cuadro 16. Cantidad de DNA de las cepas aisladas del queso panela oreado en las dos temporadas de lluvias y estiaje de cuatro queserías de Soyatlán, Jalisco. _____	141
Cuadro 17. Identidad molecular de las levaduras aisladas del queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco en dos épocas; lluvias y estiaje. _____	147

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principales países productores de leche a nivel mundial	23
Figura 2. Producción de leche en México (1994-2014)	25
Figura 3. Comportamiento de la producción, importaciones y demanda de productos lácteos en México.	27
Figura 4. Localización de Soyatlán del Oro, Jalisco	42
Figura 5. Sistema agroindustrial del queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco	63
Figura 6. Diagrama de bloques del proceso general de elaboración del queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco.	72
Figura 7. Recepción de leche para quesería.	75
Figura 8. Tiempo de atemperado de la leche.	76
Figura 9. Cuajado de la leche.	76
Figura 10. Corte del cuajo en forma de cruz.	77
Figura 11. Llenado de moldes para panela.	77
Figura 12. Estilado del queso panela.	78
Figura 13. Salado de las panelas por espolvoreo.	79
Figura 14. Oreado de panelas sobre zarzos.	79
Figura 15. Empacado de panelas para su venta.	80
Figura 16. Estibado de panelas para su transporte a los puntos de venta.	80
Figura 17. Panela fresco (A) y panela oreado (B).	81
Figura 18. Perfil descriptivo de cuatro quesos panela oreados de Soyatlán, Jalisco.	115
Figura 19. Análisis de componentes principales del queso panela oreado de de cuatro queserías de Soyatlán, Jalisco.	116
Figura 20. Fotografías de colonias lisas de levaduras aisladas de queso panela oreado en tiempo de lluvias (A, C y E) y en época de estiaje (G e I), tomadas con un Estereoscopio marca Stemi	

DV4. Las fotografías microscópicas (a, c, e, g e i) corresponden a las mismas cepas, pero fueron tomadas con un microscopio óptico Olympus BX41 a 100X. _____	138
Figura 21. Fotografías de colonias de levaduras aisladas de queso panela oreado en tiempo de lluvias rugosas (B, D, F) y en época de estiaje (H, J, K, L), tomadas con un Estereoscopio marca Stemi DV4. Las fotografías microscópicas (b, d, f, h, j, k, l) corresponden a las mismas cepas, pero fueron tomadas con un microscopio óptico Olympus BX41 a 100X. _____	140
Figura 22. Perfiles de DNA obtenidos por PCR-ISSR de levaduras lisas aisladas en temporada de lluvias (A, C, E) y secas (G, I) con 10 iniciadores. El Marcador de Peso Molecular fue de 1 kb. _____	142
Figura 23. Dendrograma UPGMA obtenido en NTSYS con el coeficiente Jaccard a partir de los perfiles ISSR generados con 10 iniciadores en las cepas de levaduras lisas A, C, E, G, I. Se utilizaron 1000 repeticiones bootstrapping. _____	143
Figura 24. Perfiles de DNA obtenidos por PCR-ISSR levaduras rugosas en temporada de lluvias (B, D, F) y secas (H, J, K, L) con 10 iniciadores. El Marcador de Peso Molecular fue de 1 kb. _____	144
Figura 25. Dendrograma UPGMA obtenido en NTSYS con el coeficiente Jaccard a partir de los perfiles ISSR generados con 10 iniciadores en las cepas de levaduras rugosas B, D, F, H, J. Se utilizaron 1000 repeticiones bootstrapping. _____	145
Figura 26. Árbol filogenético realizado con MEGA 6 obtenido a partir de secuencias de las cepas aisladas del queso panela oreado (levaduras Lisas ●●●● y levaduras rugosas ●) y comparadas con las secuencias de referencia del GenBank. Con 1000 repeticiones de bootstrap a través del método máxima verisimilitud. _____	152
Figura 27. Cepa A. GenBank: KX981192. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial. _____	155
Figura 28. Cepa B. GenBank: KX981194. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial. _____	155
Figura 29. Cepa D. GenBank: KX981195. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial. _____	155
Figura 30. Cepa F. GenBank: KX981196. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial. _____	156

Figura 31. Cepa H. GenBank: KX981197. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial. _____	156
Figura 32. Cepa J. GenBank: KX981198. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial. _____	156
Figura 33. Cepa K. GenBank: KX981199. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial. _____	157
Figura 34. Cepa L. GenBank: KX981200. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial. _____	157
Figura 35. Cepa G. GenBank: KX981201. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial. _____	157
Figura 36. Cepa C. GenBank: KX981202. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial. _____	158
Figura 37. Cepa I. GenBank: KX981203. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial. _____	158
Figura 38. Cepa E. GenBank: KX981204. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial. _____	158

ABREVIATURAS

µL	Microlitro
1kb	Pares de kilobase
ACP	Análisis de componentes principales
AEH	Agar entérico hektoen
ARBV	Agar rojo bilis violeta
ASB	Agar sulfito de bismuto
BAL	Bacterias ácido lácticas
BMA	Bacterias mesófilas aerobias
CCS	Cuenta de células somáticas
CF	Coliformes fecales
CO ₂	Dióxido de carbono
CP1	Componente principal 1
CP2	Componente principal 2
CT	Coliformes totales
CVB	Caldo verde brillante
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dNTPs	Deoxinucleósido trifosfato
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
GRASS	Generalmente reconocidas como seguros
ISSR	Inter Sequence Simple Repeats
ITS1	Espacio interno transcrito 1
ITS2	Espacio interno transcrito 2

LL	Levaduras lisas
LR	Levaduras rugosas
M	Molar
mg	Miligramos
mM	Micromolar
MRS	Man rogoso sharpe
ng	Nanogramo
nm	Nanómetro
NMP	Número más probable
NSLAB	Bacterias ácido lácticas no iniciadoras
pb	Pares de base
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PDA	Agar papa dextrosa
PDO	Denominación de origen protegida
pmol	Picomol
QDA	Análisis descriptivo cuantitativo
rRNA	Ácido ribonucleico ribosomal
SAI	Sistema agroindustrial
SDS	Dodecilsulfato sódico
SET	Enterotoxina estafilocócica
SNG	Sólidos no grasos
ST	Sólidos totales
ufc	Unidades formadoras de colonia
XLD	Xilosa dextrosa lisina

DEDICATORIAS

A mi Madre: Ángeles Esteban Lucas: Nik tlazokamati, nuchi tlen ti nech tluculituk, amo xic hilkahua, ni mitz neki mulhue miak.

A mi abuelita Carmen Flores Ahuacatitla: Ni te tlazokamatilia nuchi tlen nech mekatoke. Ni te tlazotla.

A mi padre José Pérez Ahuacatitla: Agradezco todos tus consejos, por la vida y por el valor de la honestidad.

A Carmen, Carlos, Chanty, Mateo, Oscar, ¡Los quiero!

A mis tíos: Valeria, Martha, Lupita, Eugenio, Roberto, Luciano, Ismael y Gregorio.

AGRADECIMIENTOS

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, a la Universidad Autónoma Chapingo y al Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria por el financiamiento de mis estudios y por darme la oportunidad de experimentar y generar ciencia.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECYT) por la beca otorgada para el culmen de esta investigación.

A Angy, Lolita, José Luis, Eva Valdes, Mauricio, por facilitarme todo el material necesario para poder realizar este trabajo y por todas la vivencias que compartimos. ¡Los estimo!

A la Dra. Ernestina Valadez Moctezuma: agradezco su paciencia y conocimiento, fue un placer trabajar con usted.

Al Maestro Abraham Villegas de Gante, por dirigir esta tesis. Estamos en el mismo camino de los quesos tradicionales, pero aportamos de diferente manera.

Al Maestro Armando Santos: gracias por apoyarme y dejar que sea un aventurero en la investigación, es usted un gran maestro.

Al Dr. Arturo Hernández Montes: agradezco sus consejos y todo su apoyo.

Al Maestro Adalberto Gómez Cruz: gracias por todo el conocimiento compartido en la fase experimental de microbiología, y su confianza; maestros como Usted hacen falta.

A Guillermo Koh; ¿a dónde van las palabras que no se quedaron...? gracias por tus charlas amenas, tu paciencia, conocimiento, esas tardes-noches que compartimos, música, café y queso. Eres un gran amigo.

A Anallely López Yerena: Gracias por ser una gran amiga y compañera.

Diana Itzel; Gracias por tu amistad y las vivencias que pudimos enfrentar juntos.

A la Dra. Claudia de Teodoro y al Dr. Samir Samah por todo su apoyo y conocimiento.

A los integrantes del panel sensorial: Carla Jauregui, Marce, Suley, Bruno, Magdiel, Esaú, Rolando, Ivan Cagal, Evaristo, Nestor y Edgar, por su compromiso y responsabilidad. ¡Gracias muchachos!

A los productores de Soyatlán, Jalisco, por compartirme sus conocimientos; su saber hacer.

A Perita, por el apoyo brindado durante mi estadía en el posgrado.

Resumen de noticias

He estado al alcance de todos los bolsillos...

He estado al alcance de todas las manos...

*He preferido hablar de cosas imposibles,
porque de lo posible se sabe demasiado...*

*Agradezco la participación de todos los que
colaboraron con esta melodía (tesis)...*

Silvio Rodríguez

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre: Guillermo Pérez Esteban

Fecha de nacimiento: 25 de junio de 1987

Lugar de nacimiento: Huauchinango, Puebla

No. Cartilla militar: 8789707

CURP: PEEG870625HPLRSL03

Profesión: Ingeniero en Industrias Alimentarias

Cédula Profesional: 8157360

Desarrollo académico

Bachillerato: Centro de Bachillerato Tecnológico Industrial y de Servicios No. 86 (C.B.T.I.S.)

Licenciatura: Instituto Tecnológico Superior de la Sierra Norte de Puebla (I.T.S.S.N.P.).

CARACTERIZACIÓN DEL QUESO PANELA OREADO DE SOYATLÁN, JALISCO

CHARACTERIZATION OF PANELA OREADO CHEESE OF SOYATLÁN, JALISCO

Pérez-Esteban, G¹., Villegas de Gante A²

RESUMEN

El queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco, es un queso tradicional mexicano que presenta rasgos únicos: historia, saber-hacer, características sensoriales únicas, debido a la materia prima y a la microbiota de la leche y del entorno; estos factores influyen y dan *tipicidad* a este gran queso mexicano. Lo anterior se confirmó con el estudio del Sistema Agroindustrial (SAI) leche-queso panela oreado. Los análisis proximales en leche, y queso y los análisis microbiológicos en el mismo, presentaron diferencias estadísticas significativas ($\alpha = 0.05$) en ambas temporadas. Para esto mediante muestreo dirigido se seleccionaron cuatro queserías. Se estudió el SAI leche-queso panela oreado: se halló que es un sistema corto, donde los actores de la cadena se encuentran en constante comunicación, lo cual fortalece el sistema. En cuanto a la leche, los componentes grasa y proteína de la leche fueron estadísticamente superiores en temporada de lluvias que en estiaje. En el queso, los componentes que variaron fueron la grasa y minerales. Las cuentas de *Staphylococcus aureus*, coliformes totales, y levaduras estuvieron por encima de lo establecido por la NOM-243-SSA1-2010, mientras, que la identificación de *Salmonella spp.*, resultó ser negativa en 25 g. La caracterización sensorial del queso panela oreado, evaluado a través de la técnica análisis descriptivo cuantitativo (QDA) demostró que los atributos sensoriales que caracterizan los quesos muestreados son; aroma a lácteo fermentado, sabor ácido, presencia de agujeros, apariencia húmeda y amarillamiento. También se identificó, genotípicamente, levaduras aisladas (12 cepas) del queso panela oreado. Se reconocieron las especies; *Kluyveromyces lactis*, *Yarrowia lipolytica*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida parapsilosis* y *Candida sp.*, en el queso panela de Soyatlán, Jalisco; se puede inferir que estas levaduras, aisladas e identificadas confieren cualidades sensoriales en el queso panela oreado.

Palabras clave: queso panela, leche cruda, calidad microbiológica, identificación molecular de levaduras, queso tradicional.

ABSTRACT

Panela oreado cheese from Soyatlán, Jalisco, is a traditional Mexican cheese with unique characteristics: history, know-how and unique sensorial characteristics, due to the raw material and the microbiota of the milk and the environment; these factors influence and give typicality to this great Mexican cheese. This was confirmed by the study of the milk-panela oreado cheese agroindustrial system (AIS). Proximal analyzes in milk and cheese and microbiological analyzes thereof presented significant statistical differences ($\alpha = 0.05$) in both seasons. For this, four cheese factories were selected by directed sampling. The milk-panela oreado cheese AIS was studied: it was found to be a short system, where the actors of the chain are in constant communication, which strengthens the system. As for milk, the milk fat and protein components were statistically higher in the rainy season than in the dry season. In cheese, the components that varied were fat and minerals. *Staphylococcus aureus*, total coliform, and yeast bacteria counts were above that established by NOM-243-SSA1-2010, while the identification of *Salmonella spp.* was found to be negative in 25 g. The sensorial characterization of panela oreado cheese, evaluated through the quantitative descriptive analysis (QDA) technique, showed that the sensorial attributes that characterize the sampled cheeses are: fermented dairy aroma, acidic taste, presence of holes, moist appearance and yellowing. Genotypically, isolated yeasts (12 strains) of the panela cheese were also identified. Species recognized in the panela cheese from Soyatlán, Jalisco were: *Kluyveromyces lactis*, *Yarrowia lipolytica*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida parapsilosis* and *Candida sp.* It can be inferred that these isolated and identified yeasts confer sensory qualities on panela cheese made from raw milk.

Keywords: panela cheese, raw milk, microbiological quality, yeast molecular identification, traditional cheese

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

¹Autor: Guillermo Pérez Esteban

²Director de Tesis: M.C. Abraham Villegas de Gante

I INTRODUCCIÓN

Los alimentos tradicionales son una forma de expresión de la cultura, historia y estilo de vida de quien los hace. El estudio de los quesos consiste en ciencia e historia, debido a su paso a través del tiempo ya que son testimonio de la cultura de la región que los elabora. El queso es la forma más antigua de conservar la leche y de disfrutar sus propiedades sensoriales y nutritivas. Los ingredientes principales del queso son leche, cuajo, sal y microbiota (Fox & Cogan, 2004); la variedad dependerá de la técnica de proceso, las condiciones ambientales, la raza del ganado y el tiempo de maduración, el tipo de leche y su calidad sanitaria.

Los quesos mexicanos genuinos se consideran tradicionales, debido a que son alimentos frecuentemente consumidos o asociados a zonas específicas, normalmente, el conocimiento tácito de estos alimentos es transmitido de una generación a otra; son hechos precisamente de acuerdo al patrimonio gastronómico, con procesos sencillos; son distinguidos y conocidos por sus propiedades sensoriales, relacionadas a la materia prima y a su entorno (Guerrero *et al.*, 2009).

En México existe diversidad de quesos tradicionales, de los cuales se han identificado al menos 40 tipos diferentes. La mayor parte son elaborados con leche cruda, a nivel artesanal (*v.g.* el quesillo de Reyes, Etna, Oaxaca, asadero, adobera, molido, sierra, etc.) y otros con leche pasteurizada y tecnología un tanto más moderna, por ejemplo el Chihuahua, panela industrial, etc. (Villegas, 1993; Chombo, 2008;).

Sin embargo, los quesos tradicionales mexicanos son catalogados como alimentos que no cumplen con la NOM-243-SSA1-2010 porque para esta norma, “queso es aquel producto elaborado de la cuajada de leche estandarizado y

pasteurizado, de vaca o de otras especies animales, con o sin adición de crema, obtenida de la coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas, ácidos orgánicos comestibles y con o sin tratamiento ulterior, por calentamiento, drenada, prensada o no, con o sin adición de fermentos de maduración, mohos especiales, sales fundentes e ingredientes comestibles opcionales, dando lugar a las diferentes variedades de quesos pudiendo por su proceso ser: fresco, madurado o procesado”.

Bajo esta norma los quesos tradicionales mexicanos quedan excluidos de la denominación “queso”. Debido que estos alimentos tradicionales son elaborados con leche cruda, “bronca”, sin adición de cultivos lácticos (iniciadores), no estandarizados, y no sometidos a un proceso térmico; están hechos de pura leche y en ellos se incluyen el saber-hacer y las bacterias ácido lácticas no iniciadoras (NSLAB) del entorno y propias de la leche que confieren características únicas al producto.

Algunos quesos datan de unos 100 años, como el panela oreado, y hasta 400 años como el Cotija (Chombo, 2008); son años de conocimiento empírico y de dominio de las técnicas y del manejo de fermentaciones, pero desafortunadamente, la globalización llega a casi todo el mundo y con ella la inocuidad; así, de no ser por defensores de quesos tradicionales, de investigadores, académicos, los propios productores de leche y queso, posiblemente dentro de pocos años esta riqueza gastronómica quedará reportada en los libros de historia y de tecnología.

La caracterización de quesos es un estudio importante para descubrir, demostrar y argumentar la inocuidad del queso (debido a su microbiota), dar a conocer el proceso de hechura de un queso, la interacción de los actores en sistema agroindustrial (SAI); son factores que puede favorecer una mejor venta de productos tradicionales, ya que la mayoría de las veces los productos tradicionales son reconocidos en nichos de mercados locales y regionales.

La caracterización de quesos también puede ayudar en el intento para obtener una norma que regule o monitoree solamente quesos elaborados con leche cruda; la caracterización da bases para tomar medidas de buenas prácticas de manufactura, sin perder la *tipicidad* del producto, o sea, su esencia. Además, para aspirar a alguna protección legal como la denominación de origen (DO), o alguna otra indicación geográfica (IG); eso dependerá de la organización de los pequeños productores y de cumplir con requisitos para poder certificarse y diferenciarse ante los quesos de imitación.

El queso panela de Soyatlán, Jalisco, es un queso tradicional específico; es un producto fermentado con pH bajo (4.9 – 5.2), alto contenido de humedad (58 %), microbiota nativa; levaduras propias de la leche y bacterias ácido lácticas (BAL). Además, otros factores que también influyen en las características sensoriales de este queso tradicional mexicano son su proceso de hechura, el entorno en donde se elabora, la raza del ganado y la calidad de la leche empleada.

1.1 Objetivo general

Evaluar la calidad fisicoquímica y microbiológica general del queso panela de Soyatlán, Jalisco; asimismo, su proceso de hechura y la cadena agroindustrial que le da origen.

1.2 Objetivos específicos

- a) Evaluación proximal de la leche y el queso.
- b) Análisis microbiológico general (BMA, levaduras, coliformes fecales y coliformes totales) del queso panela oreado.
- c) Identificación presuntiva de *Salmonella spp.*, y *Staphylococcus aureus*.
- d) Evaluación sensorial (Análisis Descriptivo Cuantitativo, QDA) del producto.
- e) Caracterización genotípica de levaduras presentes en el queso panela oreado.

1.3 Hipótesis

El queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco, es un queso elaborado a base de leche cruda y por ser un queso fresco, presenta humedad alta, por lo cual es posible que presente microorganismos patógenos que generan enterotoxinas, que al ser consumidas con el queso, pongan en riesgo la salud humana. Al ser aplicada la NOM-243-SSA1-2010, que obliga la pasteurización de leche para quesería, el queso panela, probablemente podría perder su *tipicidad* y su posible presencia en el mercado.

II MARCO DE REFERENCIA

2.1 Situación mundial de producción de leche de vaca

Alrededor de 150 millones de hogares en todo el mundo se dedican a la producción de leche. En la mayoría de los países en desarrollo, la leche es producida por pequeños agricultores y la producción lechera contribuye a los medios de vida, la seguridad alimentaria y la nutrición de los hogares. La leche produce ganancias relativamente rápidas para los pequeños productores y es una fuente importante de ingresos en efectivo (FAO, 2016).

Los principales productores de leche en el mundo son: Estados Unidos, con el 13.5 %; la India con el 9 %, y China con el 5.3 %, de la producción total mundial. México se encuentra en la posición 17, con el 1.6 % de la producción total (ver Figura 1).

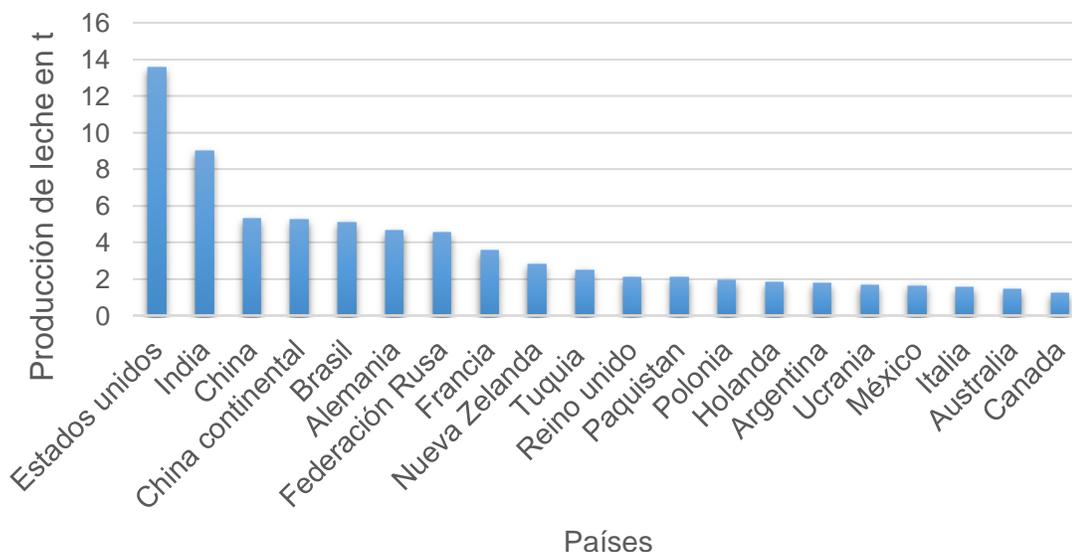


Figura 1. Principales países productores de leche a nivel mundial
Fuente: Elaboración propia con datos de FAOSTAT, 2016.

Algunos países del mundo en desarrollo tienen una larga tradición de producción lechera, y la leche o sus productos desempeñan un papel importante en la dieta. Otros países han mostrado en los últimos años un aumento significativo de la producción lechera. En tanto, la mayoría de los países con tradición quesera están situados en el Mediterráneo o el Cercano Oriente, el subcontinente indio, las regiones de sabana de África occidental, las tierras altas de África oriental y partes de América Latina y Central. Los países sin una larga tradición de producción lechera se encuentran en Asia sudoriental (incluida China) y las regiones tropicales con altas temperaturas y/o humedad ambiental (FAO, 2015).

Las expectativas para la agricultura y ganadería son amplias debido a que se prevé el aumento en la demanda de alimentos, que se satisfará mediante incrementos de productividad, con cambios moderados en el área de cultivo y los hatos ganaderos. Hay ciertas posibilidades de incrementar la sustentabilidad del área agrícola, sobre todo en muchas partes de América Latina y África Subsahariana (OCDE/FAO, 2016).

2.2 Situación de producción de leche en México

El sector de lácteos es uno de los más complejos en la cadena de producción pecuaria. Tiene un ciclo de producción largo e interactúa activamente con el sector bovino de carne y con el mercado de forrajes. Asimismo, un importante número de productores en México participan en la cadena bajo una dualidad en la producción, tanto de carne como de leche (SAGARPA, 2016). La producción primaria de leche es un importante elemento para toda la cadena láctea. Es el eslabón de la cadena de valor que tiene la mayor participación en: a) los costos, b) los recursos utilizados, c) la creación de emisiones y d) los desafíos políticos propios de la producción lechera (IFCN, 2010).

La producción de leche de bovino en México se realiza prácticamente en todo el territorio nacional, en 789 000 unidades ganaderas que practican cuatro sistemas de producción: tecnificado, semi-tecnificado, familiar y de doble propósito. Los

tres últimos corresponden a pequeños y medianos productores (Villegas & Cervantes, 2011). La producción de leche ha aumentado de manera significativa con el 2 % en promedio, desde hace 20 años (ver Figura 2).

La situación lechera en México es un factor que dinamiza los sistemas agroindustriales (SAI), debido a la activación económica que se genera a través de la transacción de leche entera fluida y productos lácteos. Tan sólo en el año 2015, México produjo 11 millones 394 mil 663 L de leche (INEGI, 2016). Lo cual es insuficiente para una población de 119 millones 530 mil 753 habitantes en México (INEGI, 2015). Los estados con mayor producción de leche fueron: los de la Región Lagunera (Coahuila y Durango) (25 %), Jalisco (22 %), Chihuahua (11 %), Guanajuato (8 %), y Veracruz (7 %), (SIAP-SAGARPA, 2016) del total de los cuatro sistemas lecheros existentes en México, pero estados con mayor producción de leche en sistema de doble propósito son; Veracruz (27.6 %), Chiapas (17.2 %), Jalisco (7.7 %) Guanajuato (4.8 %), y Tabasco (4.7 %), estos cinco estados producen el 62 % de leche con ganado de doble propósito (SIAP-SAGARPA, 2016).

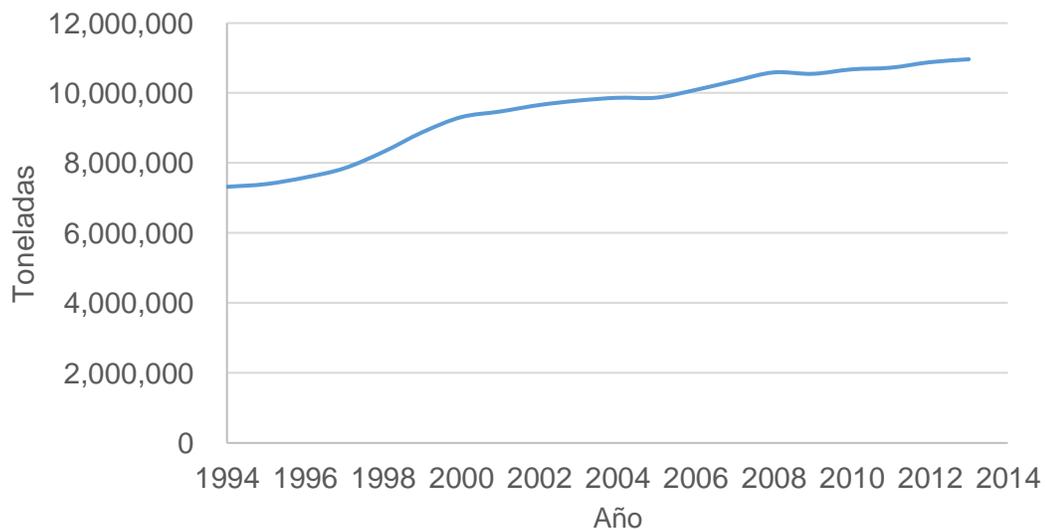


Figura 2. Producción de leche en México (1994-2014)
Fuente: Elaboración propia con datos de FAOSTAT, 2016.

En México la agroindustria lechera (AIL), es la más importante en el sector de alimentos, con el 18.5 % del PIB de la industria alimentaria, y 0.6 % del PIB del país. Cuenta con 1 961 unidades manufactureras oficiales, pero más de 10 961 en la subrama de helados y paletas, y un vasto número de pequeñas y medianas AIL que se desempeñan a nivel informal (Poméon & Cervantes, 2012). La industria seguirá creciendo, y se estima que en 2025 se producirían 14 200 millones de litros / año (+ 1.7 % anual) de leche fresca, para abastecer un mercado de 18 200 millones de litros / año (+ 1.4 % anual) en un México de 126 millones de habitantes (CANILEC, 2016a).

2.3 Situación de la quesería nacional

La agroindustria quesera (AIQ) se caracteriza por ser el sub sector de la AIL con mayor número de empresas (Poméon & Cervantes, 2012). Se estima que en el 2013 México tuvo una producción en quesos de 140 000 t (FAOSTAT, 2016), pero ese mismo año se importaron 106 481 t de queso, lo que representa el 76 % de la producción total del país en quesos, estas importaciones son principalmente de Estados Unidos, con el 73.93 % y Nueva Zelanda con 8.24 % (CANILEC, 2016b), lo cual refleja inseguridad alimentaria y esto se manifiesta en el eslabón primario, que son los productores lecheros. Es por eso que en el mercado nacional de quesos, circulan varios productos –que a primera vista constituyen bienes sustitutos, muy parecidos– que aparentemente cumplen la misma función (Villegas & Cervantes, 2011).

Los quesos que actualmente se industrializan en grandes volúmenes en todo el mundo se empezaron a elaborar con procedimientos artesanales, que se han venido mejorando, con mayor higiene y más tecnificación. Los quesos artesanales fueron los precursores de los industrializados, aunque se les vea con cierto menosprecio por carecer de la homogeneidad y apariencia de los últimos (Cervantes, Villegas, Cesín & Espinoza, 2013).

El consumo de leche en México está ligado al ingreso real, precios y las preferencias de los consumidores. Un poco más del 40 % del consumo total es en forma de leche fluida y el resto como productos manufacturados. La demanda por este producto mantiene una tendencia al alza de manera progresiva. Se estima que el consumo pasará de 11.8 mil millones de litros en 2009 a 14.6 en 2018 (ver Figura 3) (SAGARPA, 2016).

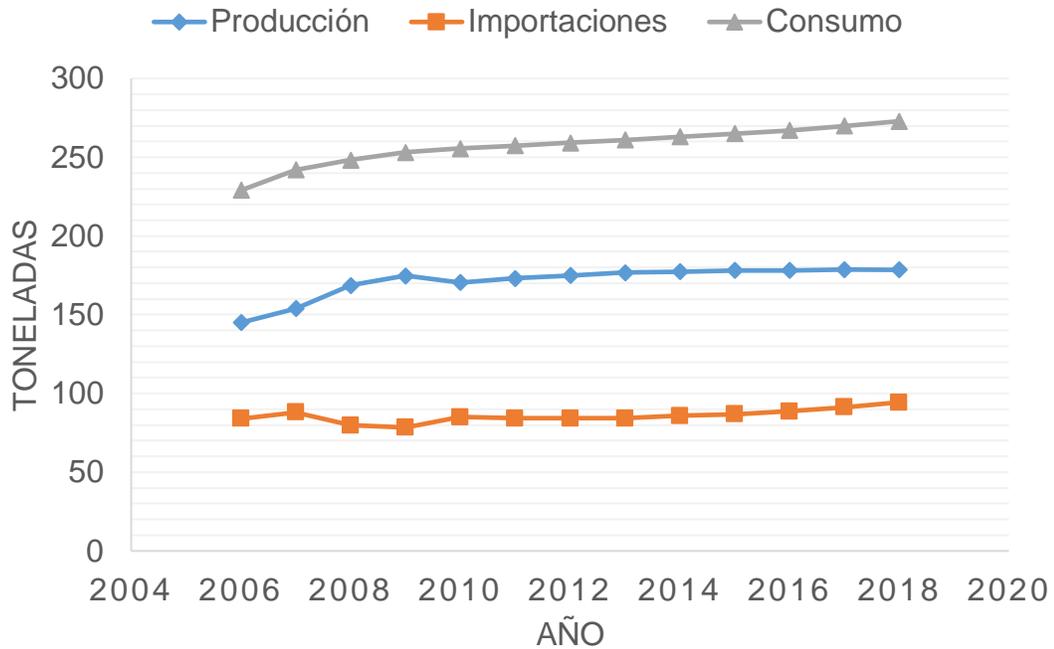


Figura 3. Comportamiento de la producción, importaciones y demanda de productos lácteos en México.
Fuente: Elaboración propia con datos de SAGARPA, 2016

La demanda de quesos es mayor que la oferta y desafortunadamente se estima que las importaciones de leche en polvo incrementen; en el 2009 se importaron 19.42 mil toneladas, y se estima que en el 2018 se alcanzará un total de importaciones de 48.95 mil toneladas en 2018 (SAGARPA, 2016). A pesar de incrementar las importaciones los próximos años, en primera instancia pueden afectar a los pequeños productores, pero cada vez crece un mercado afín de productos tradicionales y artesanales, en el cual los quesos tradicionales mexicanos se posicionan, ya que además de ser nutritivos también son alimentos sustentables y amigables con el medio ambiente, dado que la sustentabilidad se

define por el bajo impacto al medio ambiente, la seguridad alimentaria y la nutrición, y una vida saludable (Nguyen-the *et al.*, 2016), Por lo tanto, el Sistema agroindustrial (SAI) leche-queso es una alternativa de seguridad alimentaria para el país.

2.4 Quesos mexicanos genuinos

En México existe una diversidad de quesos tradicionales, de los cuales se han identificado al menos 40 tipos diferentes (Villegas, 1993; Chombo, 2008;). Las variedades de quesos frescos son muy populares en los países de América Latina, representando cerca del 80 % del consumo de queso (*v.g.* México); son quesos frescos; generalmente conocidos por su corta vida de anaquel y por su alto contenido de humedad (Saxer, Schwenninger & Lacroix, 2013).

La diversidad y complejidad de variedades en queso dificulta, su clasificación y caracterización. La mayoría de los sistemas de clasificación están basados exclusivamente en los siguientes criterios: propiedades texturales (firmeza), tipo de leche, método de coagulación, temperatura de cocido, composición del queso y características de maduración (Almena-Aliste & Mietton, 2014).

“En México, los quesos se pueden clasificar atendiendo a varios criterios, por ejemplo, formato (peso y tamaño), tipo de molde empleado, consistencia, grado de maduración y otros. Predominan los cilindros más bien aplanados (*v.gr.* el queso Chihuahua, el de aro, de sal, sierra, de hoja, de rueda, etc.): en algunos casos el diámetro y el talón (altural) casi equivalen en magnitud (*v.gr.* el cotija). Sigue luego la forma prisma rectangular, como el queso adobera, el mismo Chihuahua, el crema y el de poro. No están ausentes formas un tanto originales, como el panela (truncónica), el guaje (basto), el Oaxaca, el trenzado, y el bola de Ocosingo” (Cervantes *et al.*, 2013, p. 39).

Particularmente, el queso panela es un queso fresco, de pasta blanda, autoprensado, elaborado con leche pasteurizada de vaca (ocasionalmente de

vaca/cabra) entera o parcialmente descremada. Como todos los quesos frescos mexicanos su composición incluye un porcentaje elevado de agua (58 %) y por ello es generalmente conservado en refrigeración desde el momento de su elaboración (Villegas, 2012); se presenta en el mercado como un queso blanco, en piezas que van desde 0.5 hasta 2 kg, aproximadamente (Cervantes *et al.*, 2013).

2.4.1 Tipicidad de quesos mexicanos genuinos

Un producto tradicional no puede definirse exclusivamente a partir de las expectativas de los consumidores, y el diferencial de precios a su favor, no puede interpretarse por la remuneración exclusiva de su notoriedad. La *especificidad* de los alimentos tradicionales procede de la incorporación de valores patrimoniales producidos en los territorios, por ejemplo: queso poro de Tabasco, queso Cotija de Jalisco y Michoacán, queso añejo de Zacazonapan, Estado de México, etcétera (Linck, Barragán & Casablanca, 2006).

Cabe resaltar que la demanda de seguridad alimentaria y de identidad cultural de parte de los consumidores postmodernos, ha permitido el surgimiento de un nuevo patrón de producción en las áreas rurales. Las producciones alimentarias típicas están viviendo un periodo de gran redescubrimiento, ya que con la existencia de especificidades territoriales en la función de la producción agrega valor al producto típico y al producto natural (Fonte & Acampora, 2007).

Tipicidad se define como un producto tradicional, que las personas perciben en un vínculo inquebrantable entre la imagen local, los lugares, la historia, los itinerarios y el entorno específico: el producto, por lo tanto, "tiene connotación inmaterial histórica y cultural, que está arraigada en el territorio de origen" (Mattiacci & Vignali, 2004), también se puede definir como "un resultado social, económico y cultural, y por lo tanto, es el efecto concreto de la interacción entre una área geográfica definida, el trabajo del hombre, que se caracteriza en esa dimensión territorial, humana, temporal y cultural" (Gonano, 1997).

La ventaja competitiva y las peculiaridades de un producto típico se pueden ejemplificar en un queso francés, una pasta italiana, un salmón ahumado escocés, un vino chileno (Nosi & Zanni, 2004), así como un queso de Poro de Tabasco, un queso Cotija de la Sierra de Jalmich (Jalisco-Michoacán), etc.; todos estos productos se hallan ligados a una zona de origen y a un saber-hacer. Se mencionan nueve atributos para que un alimento se reconozca como típico; 1) territorio; 2) comercio; 3) regulación legal; 4) el carácter industrial; 5) tiempo; 6) tradición; 7) especificidad; 8) identidad; y 9) calidad nutricional (Mattiacci & Vignali, 2004).

En un marco de desarrollo local, y con una visión global, es necesario analizar distintas formas de relación entre producto y territorio, como vías de potenciación mutua. Para ello es importante definir el concepto de *tipicidad*, así, para considerar típico un producto este debe hallarse ligado espacialmente a un territorio y culturalmente a unas costumbres o modos, con un mínimo de permanencia en el tiempo o antigüedad, y debiendo poseer unas características cualitativas particulares que lo diferencien de otros productos (Gómez & Caldentey, 1996).

2.4.2 Identidad territorial

Existe un nuevo comportamiento alimentario de los consumidores, las personas dejan de consumir *commodities* para consumir “productos”, esto permitiría sustentar la producción de bienes o servicios con identidad territorial. Los *commodities*, a diferencia de los productos con atributos específicos con identidad, pueden eventualmente diferenciarse por calidad. En ambos casos, calidad e identidad, corresponden a valoraciones hedónicas, es decir, es el consumidor quien define qué atributos son valorables y cuál es el precio que corresponde pagar por ellos en el mercado (Ramírez, 2007).

En este sentido, los quesos tradicionales son productos identitarios. Los recursos ambientales, los conocimientos y las tradiciones locales que moviliza su

elaboración marcan la unidad de la comunidad que los produce y ostentan su diferencia frente a las vecinas; mientras el empeño, la pasión y los conocimientos individuales asientan prestigio y jerarquía interna (Linck *et al.*, 2006).

2.5 Caracterización de quesos

La demanda creciente de productos con calidad ligada al origen, por parte de consumidores que desean conocer, entre otros, productos alimentarios originarios de un lugar, su producción, cata y forma y procesos de elaboración, ha propiciado propuestas que se relacionan con el turismo gastronómico (Millán, Amador & Arjona, 2016).

Caracterizar un producto es dar a conocer los rasgos únicos que lo identifican en el mercado. Para esto, la caracterización de los quesos tradicionales consiste en evaluar las diferentes calidades del producto: microbiológica, sensorial, fisicoquímica y simbólica. Las cualidades de cada queso tradicional se deben a factores como el saber hacer, la raza del ganado, el tipo de alimentación que se le da al hato y la microbiota propia de la leche, entre otras.

La caracterización significa resaltar rasgos tangibles e intangibles de un producto, en otras palabras es dar a conocer su *tipicidad*. Además, implica aspectos principalmente económicos, ya que caracterizar es una palabra muy general y caracterizar quesos tradicionales es percibir la vinculación entre productores y consumidores. Siguiendo a Laminé (2015), la reconexión de los productores y los consumidores parece ser equivalente a reconectar la agricultura y los alimentos, en este caso el vínculo lechero-quesero-comprador.

La caracterización puede ayudar como sustento científico, a la creación de una denominación de origen, una marca colectiva, identificación geográfica, que como es bien sabido en el mercado existe una gran variedad de productos, pero cuando un producto adquiere cierta reputación, se puede encontrar con usurpaciones e imitaciones (Millán *et al.*, 2016).

Existen más de 166 variedades de quesos que han obtenido registro como productos protegidos con denominación de origen (PDO). La mayoría de estos quesos registrados, surgen en pocos países con una larga tradición quesera, tales como Francia (42), Italia (35), España (22), Grecia (20) y Suiza (11) (Bachman *et al.*, 2011; Ryffel, Piccinali & Bütikofer, 2008). De ahí la importancia de descubrir, describir y difundir a los quesos tradicionales mexicanos como productos con identidad territorial.

La identidad no sólo tiene un valor específico en el mercado, sino que hay un conjunto de convenios que permiten que los productores se apropien de dicho valor y para que la producción de bienes o servicios con identidad territorial sea afectiva, los atributos no sólo deben existir, sino se deben de mantener en el tiempo (Ramírez, 2007) y también demostrar que los quesos artesanales elaborados con leche cruda son una fuente económica importante; con ellos los productores pueden tener una ventaja competitiva ante grandes empresas que forman parte de la globalización (Bachman *et al.*, 2011).

2.6 Evaluación sensorial de quesos

2.6.1 Análisis sensorial descriptivo

El análisis sensorial descriptivo es una herramienta confiable en el arsenal del investigador sensorial. Esta técnica permite al investigador sensorial obtener descripciones completas de productos, para identificar las variables de ingredientes y el proceso subyacente, y/o para determinar qué atributos sensoriales son importantes para la aceptación (Lawless & Heymann, 2010). Para que la caracterización de atributos sensoriales sea buena, esta técnica descriptiva es crucial en el desarrollo de un producto que se relaciona con las expectativas del consumidor, como impulsor fuerte de la calidad sensorial para el consumidor en aceptación y demanda de un producto (Desai, Shepard & Drake, 2013).

El análisis descriptivo cuantitativo (QDA) está fuertemente relacionado con el análisis estadístico, para determinar procedimientos apropiados en panelistas que pueden ser empleados como jueces, para el análisis de productos específicos (Meilgaard, Vance & Carr, 2003). Para seleccionar panelistas descriptivos se aplica la prueba secuencial, que economiza el número de evaluaciones requeridas para emitir una conclusión, por ejemplo, la aceptación o rechazo de un grupo de panelistas. En las pruebas secuenciales los valores de α y β se determinan con anterioridad y n se determina al evaluar el resultado de cada juicio sensorial a medida que éste va ocurriendo (Hernández, 2007).

El QDA es una de las técnicas sensoriales descriptivas más comunes; es usada para describir las propiedades sensoriales y la intensidad de un producto (Ng *et al.*, 2012). Este método necesita panelistas entrenados, que identifiquen y cuantifiquen, en orden de ocurrencia, las propiedades sensoriales de un producto o un ingrediente (Hernández, 2007). Entre los productos en los cuales se ha aplicado esta técnica se encuentran: el Queso Añejo de Zacazonapan (Hernández, Hernández, Aguirre & Villegas, 2010), Jugo de Grosella Negra (Ng *et al.*, 2012), Queso Adobera de Atengo, Jalisco (Sánchez, Villegas, Santos & Hernández, 2012), Queso de mezcla (de leche) de burra y cabra (Šarić *et al.*, 2016), Vino de frambuesa (Duarte *et al.*, 2010), por mencionar algunos.

Los quesos elaborados a base de leche cruda tienen sabores más fuertes e intensos que los quesos con leche pasteurizada (Yoon, Lee & Choi, 2016). Por lo que es necesario su caracterización sensorial; independientemente de la variedad del queso, los quesos de leche cruda tienen más diversidad en sabores (Bachman *et al.*, 2011). En los quesos tradicionales, la caracterización sensorial es factor importante, para poder aspirar a certificaciones como las indicaciones geográficas (IG), que proporcionan un medio que favorece, que el control de la producción y la venta de un producto para que permanezca en el área de producción y también permite que los actores tengan acceso a mercados extralocales (Bowen, 2012), a aspirar a denominaciones de origen (DO) y poder competir con calidad sensorial, ante productos de imitación.

Por lo tanto, combinar el análisis instrumental, el análisis sensorial y el análisis microbiológico ofrecen datos confiables para la caracterización de algunos quesos (Price *et al.*, 2014) y su aceptabilidad en el mercado (Ryffel *et al.*, 2008).

2.7 Análisis microbiológico en quesos

El enfoque del fenómeno alimentario, no puede aislar lo biológico de lo social. El acto de comer pone en juego variables de orden muy diferente: la composición y las características de los alimentos, la salud del consumidor, su identidad cultural, la dinámica de los territorios donde habita y la evolución de las producciones y de los productores agropecuarios (Muchnik, 2004).

La leche, es un alimento con alto valor nutritivo; se puede obtener de diversos mamíferos: vacas, cabras, y búfalas de agua, etc., para el consumo humano. Sin embargo, el alto contenido de nutrientes de estas leches, que incluye proteínas, grasas, carbohidratos, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales, todas con un pH casi neutro y una alta actividad de agua (*aw*), proveen un medio ideal para el crecimiento de microorganismos (Quigley *et al.*, 2013).

En la actualidad los productos ofrecidos en el mercado pasan por varios filtros de higiene que garantizan la inocuidad del alimento y por ende evitar enfermedades transmitidas por esta vía. Para la producción de quesos, el uso de leche cruda fue común hasta hace algunas décadas. Empero, con la industrialización en la manufactura del queso, las empresas llegaron a ser grandes, los almacenes para leche aumentaron, y, como una consecuencia, la calidad microbiológica de la leche cruda y correspondiente al queso, a menudo varió de lote en lote (Bachman *et al.*, 2011).

Desde 1940 (en Francia), la leche cruda se fue sujetando más y más a tratamientos térmicos (pasteurización lenta 63 °C/30 min y rápida 73 °C/15 s) para mejorar los procesos de control en la elaboración de quesos, además de cuidar de la salud pública. Sin embargo, ambos cambios; calor inducido en la

leche y la eliminación considerable de microbiota de la leche cruda afectó la fabricación de quesos, los procesos de maduración y alteró sus características sensoriales (Bachman *et al.*, 2011). Actualmente, en general, la pasteurización de la leche es considerada como una de las medidas más efectivas para disminuir la presencia de microorganismos patógenos y así mejorar la calidad higiénica de la leche (Yoon *et al.*, 2016).

Sin embargo, los quesos de leche cruda albergan una flora microbiana compleja, que algunos de cuyos miembros pueden actuar como protectores contra patógenos (por ejemplo las BAL), mientras que la leche pasteurizada, al ser sometida a tratamiento, pierde su microbiota nativa y es más susceptible a una contaminación post-pasteurización (Bachman *et al.*, 2011); esto genera efectos adversos, como la inactivación de algunas enzimas, proteasas y lipasas presentes en la leche cruda o bronca (Yoon *et al.*, 2016). Que favorecen una buena maduración en ciertas variedades de queso.

En leche cruda se encuentran bacterias ácido lácticas (BAL), que son parte de la microbiota natural de la leche y de productos lácteos; éstas producen varias sustancias con actividad antimicrobiana, tales como ácidos orgánicos, peróxido de hidrogeno, diacetilos, CO₂, y bacteriocinas, que inhiben el crecimiento de bacterias enteropatógenos eventualmente presentes en el alimento (Ortolani, Yamazi, Maraes, Viçosa & Nero, 2010). Además de las BAL, se hallan levaduras, algunas con actividad “killer” o “asesina”, que inhibe el crecimiento de bacterias, levaduras y hongos indeseables en los alimentos, aparentemente por la liberación de compuestos antimicrobianos llamados “*micocinas*” o toxinas asesinas. Las “*micocinas*” son proteínas extracelulares o glicoproteínas que interrumpen la función de la membrana celular en microorganismos susceptibles (Hatoum, Labrie & Fliss, 2013).

Para quesos de leche cruda, la ordeña es el primer punto crítico de control, y en el proceso de elaboración, el análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP), la calidad de la leche está influenciada por la forma de ordeño, los utensilios usados, el envasado, el manejo postproducción (Little *et al.*, 2008). Por

lo tanto realizar un análisis microbiológico a la materia prima y al producto final es importante para demostrar la diversidad taxonómica de comunidades microbiológicas nativas del queso (Montel *et al.*, 2014), y poder demostrar su inocuidad.

2.7.1 *Salmonella spp.*, en quesos de leche cruda

La leche ocupa un lugar destacado entre los alimentos, y se considera como el alimento más perfecto para el ser humano, desde el nacimiento hasta la senilidad, ya que no sólo muestra buenas propiedades sensoriales y todos los nutrientes necesarios para el cuerpo y su crecimiento rápido, sino también puede prevenir o reducir riesgos de muchas enfermedades por deficiencia nutricional (Zeinhom & Abdel-Latef, 2014).

La leche cruda todavía se utiliza por gran número de familias de agricultores y trabajadores, y por un segmento creciente de la población en general que cree que la leche no sólo es segura, sino también produce efectos beneficiosos para la salud, que son destruidos por la pasteurización (LeJeune & Rajala-Schultz, 2009). Generalmente, los brotes de *Salmonella* están asociados a los quesos, y pueden ser atribuidos a una incorrecta pasteurización, o una contaminación post pasteurización (Van Duynhoven *et al.*, 2009). Por lo tanto, el uso de la leche cruda para quesería sigue siendo un tema de debate.

Algunos productores, consumidores e investigadores de queso artesanal, sin embargo, prefieren el queso elaborado con leche no pasteurizada, porque creen que la pasteurización significa la extinción de los "mejores" quesos. Afirman que pasteurizar la leche antes de su uso reduce el "flavor" y alarga el tiempo para la maduración (Knight, Worosz, Todd, Bourquin & Harris, 2008).

En particular, *Salmonella spp.*, tiene alrededor de 2 500 serotipos y es el agente causante de Salmonelosis; la segunda causa más común de intoxicación gastrointestinal en el mundo desarrollado. Es bien sabido que *Salmonella spp.*,

se introduce principalmente a través de la cadena agroindustrial y de la producción de alimentos de origen animal, incluyendo, aves de corral, carne vacuna, leche y productos lácteos, huevos y mariscos (Singh, Batish & Grover, 2012).

2.7.2 *Staphylococcus aureus* en quesos de leche cruda

Staphylococcus aureus es uno de los patógenos más comunes en brotes de intoxicación alimentaria bacteriana (Guo, Xin, Zhang, Ouyang & Kong, 2016) debido a la capacidad de algunas cepas de producir varios tipos de enterotoxinas. Los alimentos de origen animal, tales como la leche y el queso, son naturalmente susceptibles a la contaminación por estos microorganismos, que se multiplican y producen enterotoxinas. Estas sustancias son termoestables y mantienen su estabilidad incluso después de tratamientos térmicos, típicamente empleados en las industrias alimentarias como la pasteurización, representando un riesgo para el consumidor y haciendo necesario el control de aquellos microorganismos durante el proceso inicial (Viçosa, Moraes, Yamatzi & Nero, 2010).

Los estafilococos son contaminantes frecuentes en leche cruda; *Staphylococcus aureus* es ampliamente reconocido como agente causal de la mastitis clínica y subclínica en ganado lechero, ovejas y cabras (Elliot & Ryser, 2012); este microorganismo, usualmente es asociado con infección de la ubre. Además, la leche cruda con una baja calidad higiénica, puede contener varios millones por mililitro, y consecuentemente, la cuajada fresca de tal leche quizá tenga cuentas de *S. aureus* de más de 100 000 ufc·g⁻¹. Lo cual significa presencia de enterotoxinas estafilocócica (SET) (Bachman *et al.*, 2011; Guo *et al.*, 2016). Una enterotoxina es una toxina que específicamente afecta las células de la mucosa intestinal, causando vómitos, diarrea; puede ser producida por especies como *Bacillus*, *Clostridium*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus* (Zeinhom, Abdel-Latef & Jordan, 2015).

2.8 Identificación genotípica de levaduras presentes en queso panela oreado

Las levaduras juegan un papel importante en la industria láctea, principalmente en la producción de quesos, donde comúnmente están presentes. El progreso en las técnicas moleculares en las últimas dos décadas ha abierto numerosas posibilidades para identificar y caracterizar levaduras a nivel genómico, para recomendar las mejores como probióticos en alimentos (Binetti, Carrasco, Reinheimer & Suárez, 2012).

Naturalmente, existen comunidades microbianas de quesos con leche cruda que se han investigado usando PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), gradiente de desnaturalización, electroforesis en gel y pirosecuenciación del gen 16S rRNA (Yoon *et al.*, 2016). Diversos estudios han aplicado la técnica de PCR para identificar levaduras, como *Debaryomyces hansenii*, presente en jamón Ibérico (Gallardo *et al.*, 2014), *Yarrowia porcina*, presente en carne de cerdo (Nagy, Dlačny, Medeiro, Péter & Rosa, 2014), arroz y yuca (Soka & Irene, 2013), *Candida kéfir* (Ilanieva, Voromina & Pidgorskyi, 2013), entre otros productos. Esta técnica (PCR) científica ha revolucionado la biología y la microbiología, ya que se puede tener una mejor precisión en la identificación de microorganismos presentes en los alimentos, en especial quesos de leche cruda.

La mayoría de los métodos moleculares difundidos usados para la identificación de las especies de levaduras están basados en la variabilidad genética ribosomal 5.8S y 26S porque muestran un polimorfismo intraespecífico y una alta variabilidad intraespecífica (Tofalo & Suzzi, 2016).

2.8.1 Espacio interno transcrito (ITS)

Para analizar los taxones de levaduras estrechamente relacionados, se utiliza con mayor frecuencia el análisis de restricción de regiones de rDNA no codificantes: el fragmento ITS 5.8S, que incluye el gen rRNA 5.8S, y los

espaciadores internos transcritos ITS1/ITS2 (Naumova, Naumov, Nikitina, Sadykova & Kondratieva, 2012).

2.9 Perfiles moleculares en quesos

2.9.1 ISSR

En las últimas décadas, varios estudios han estado dirigidos a la detección e identificación de marcadores que pueden estar relacionados con el origen geográfico de la leche y el queso, así como con el vínculo a las áreas de producción, en especial con la autenticación de productos lácteos con denominación de origen (PDO) (Bonizzi, Buffoni, Feligini & Enne, 2009). Los métodos analíticos para estudiar comunidades microbiológicas han cambiado dramáticamente en las últimas dos décadas debido al desarrollo de enfoques moleculares (Nocker, Burr & Camper, 2007).

Las técnicas moleculares han mejorado la comprensión de la evolución (filogenia) de microorganismos en los últimos 30 años, en una magnitud sin precedentes. Para estudiar la variabilidad genética entre especies es necesario usar la técnica PCR con amplificación, con geles de acrilamida. Los marcadores moleculares, independientemente de las condiciones de cultivo, proporcionan una herramienta potencial para la discriminación de genotipos relativamente cercanos. El marcador ISSR utiliza un solo iniciador para amplificar fragmentos de DNA entre dos regiones idénticas de repetición de microsatélites (SSR) orientadas en direcciones opuestas (Shao, Xu & Chen, 2011). Es un marcador molecular conocido como secuencias repetidas simples (ISSR). Esta es una técnica relativamente nueva y es similar a los RAPDs, excepto que en los ISSRs el iniciador es un di o trinucleótido repetido (Rentaría, 2007).

Los ISSRs son marcadores semiarbitrarios, amplificados por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a partir de la presencia de un oligonucleótido o primer complementario a un microsatélite, diseñado para unirse a los nucleótidos

repetidos de di y trinucleótidos (evitando los mononucleótidos presentes en el cloroplasto). Los primers de ISSRs consisten en un repetido de di- o trinucleótidos complementario a la secuencia del microsatélite (González & Aguirre, 2007).

Algunos quesos tradicionales en los que se ha empleado herramientas moleculares para la identificación de levaduras son: el queso Livarot (Larpin *et al.*, 2006), el queso Kurut de Xinjiang (Ramila *et al.*, 2016), el queso Stilton (Gkatzionis, Yunita, Linforth, Dickinson, Dodd, 2014), el queso feta (Psomas, Andrighetto, Litopoulou-Tzanetaki, Lombardi & Tzanetakis, 2001), el queso Caciopfiore della Sibilla (Cardinali *et al.*, 2016), el queso Pecorino di Filiano (Capece & Romano, 2009), y el queso Cotija (Dolores, 2009), por mencionar algunos. Los ISSR ayudan a diferenciar especies para las que no se cuenta con suficientes datos genómicos previamente publicados, o bien para las cuales se quiere obtener información genética de manera rápida y relativamente económica (Cornejo, Díaz, Aguilar & Munive, 2014).

2.10 Ubicación y descripción de área de estudio

Soyatlán del Oro, es una localidad del municipio de Atengo, Jalisco; limita al norte con los municipios de Mixtlán, Guauchinango y Ameca; al sur con los de Cuautla, Ayutla y Tenamaxtlán; al este con el municipio de Tecolotlán y al oeste con Atenguillo (ver Figura 4). Presenta un clima semiseco, con otoño e invierno secos y semicálidos, sin cambio térmico invernal bien definido. La temperatura media anual es 20.3°C., y la precipitación pluvial media es de 924 milímetros (Gobierno del Estado de Jalisco, 2010).

El sector económico agrícola destaca cultivos de pasto forrajero, maíz, garbanzo y sorgo, en el sector ganadero; sus recursos ganaderos lo integran especies bovinas de leche, y carne, porcinos, equinos, aves de postura y carne y colmenas. Soyatlán, presentó una población de 2 181 individuos en el 2010 (Gobierno del Estado de Jalisco, 2010)

Esta investigación se llevó a cabo en el Estado de Jalisco, específicamente en Soyatlán del Oro, perteneciente a la región de la Sierra Amula, con la finalidad de delimitar la zona de estudio de producción de queso panela oreado. La localidad de Soyatlán presenta como su sector económico principal la ganadería y la agricultura. En la ganadería cuenta hatos de doble propósito (carne y leche); el sistema lechero es familiar y de doble propósito.

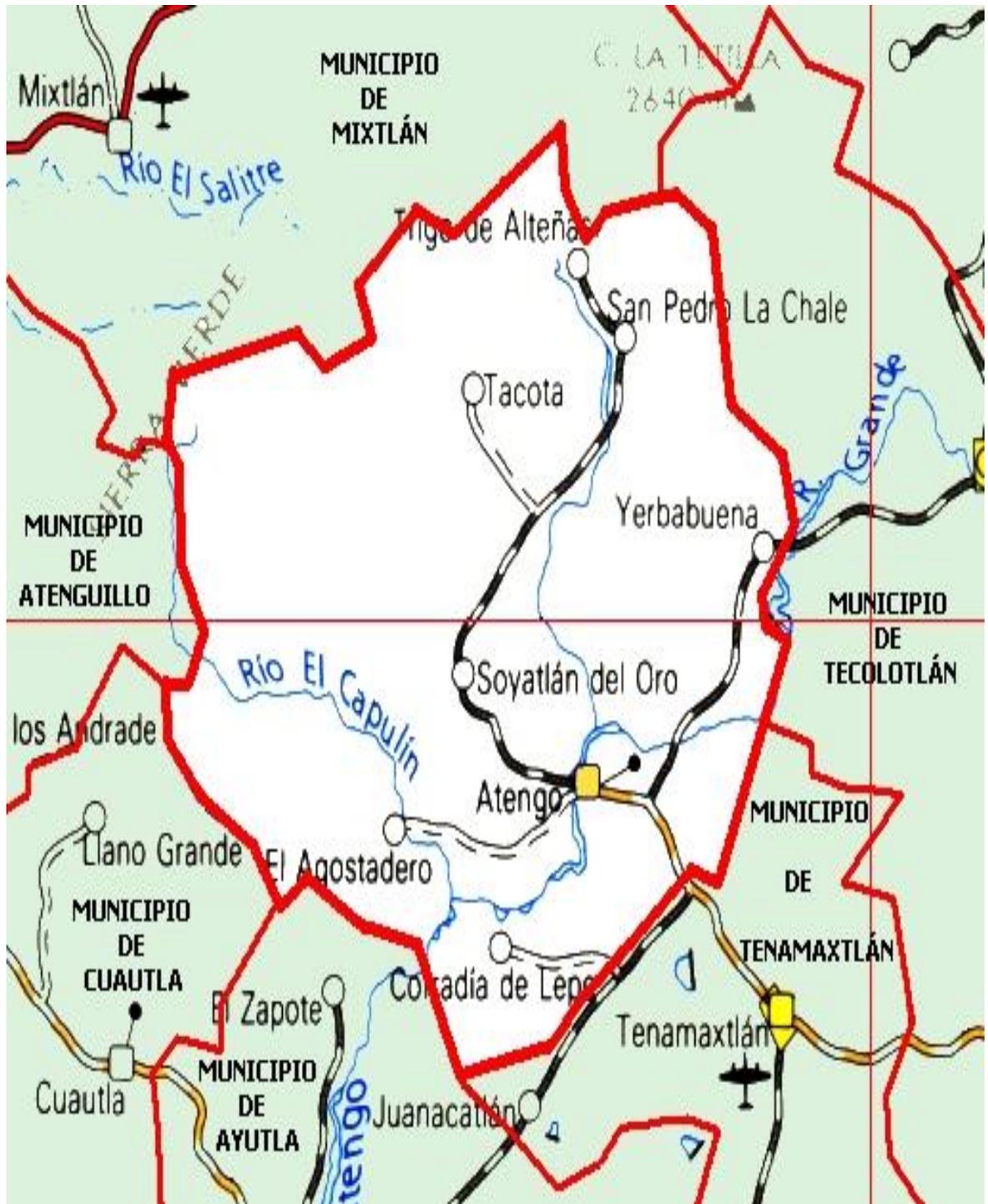


Figura 4. Localización de Soyatlán del Oro, Jalisco
Fuente: INEGI

2.11 Lechería y queso panela oreado

Soyatlán del Oro, Jalisco, tiene una producción de leche aproximadamente de 1500 L diarios. El mayor rendimiento se presenta en lluvias, debido a la gran disponibilidad de pasto y forraje. La producción por animal es variable y depende de la raza del hato. Se estima que en temporada de lluvias el hato en general produce alrededor de 5-8 L, como máximo, mientras que en tiempo de secas la producción por vaca es de 3-4 L. Los lecheros venden su leche a pequeños queseros; otros, ellos mismos la trabajan. El queso elaborado se comercializa en Autlán, Tenamaxtlán, Tecolotlán, la Unión, y en el propio municipio de Atengo.

El oficio de lechería y quesería ha trascendido con el tiempo y es una forma de sustento en la región de Soyatlán. Las pequeñas queserías aún elaboran quesos de pura leche, cruda, sin cultivos indicadores y sin extensores. Entre los productos son; Queso panela, queso panela oreado, queso de mesa, queso adobera, y el queso Cotija. Esta zona se tornó de interés para estudiar y analizar las cualidades del queso panela oreado, así como para identificar su proceso de elaboración.

El muestreo fue dirigido, no participativo en cuatro queserías denominadas (A, B, C, y D). Las dos épocas en que se realizó el estudio fue en temporada de lluvias (octubre, 2015) y temporada de estiaje (febrero, 2016); las queserías que se seleccionaron; mostraron interés y disponibilidad para participar en el estudio, uno de los requisitos principales fue la elaboración del queso panela oreado.

BIBLIOGRAFÍA

- Almena-Aliste, M., and Mietton, B. (2014). Cheese classification, characterization, and categorization: a global perspective *In* Catherine W. Donnelly (Ed.), *Cheese and Microbes*, (pp. 39-72), Washington, DC, American Society for Microbiology, DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/microbiolspec.CM-0004-12>
- Bachman, H. P., Fröhlich-Wyder, M. T., Jakob, E., Roth, E., Wechsler, D., Beuvier, E., y Buchin, S. (2011). *Raw Milk Cheese*. Elsevier Science.
- Binetti, A., Carrasco, M., Reinheimer, J., y Suárez, V. (2012). Yeasts from autochthonal cheese starters: technological and function properties. *Journal Applied Microbiology*, 115, 434-444.
- Bonizzi, I., Buffoni, J. N., Feligini, M., and Enne, G. (2009). Investigating the relationship between raw milk bacterial composition, as described by intergenic transcribed spacer–PCR fingerprinting, and pasture altitude. *Journal of Applied Microbiology* 107, 1319–1329, DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04311.x>
- Bowen, S. (2012). Las indicaciones geográficas, la globalización y el desarrollo territorial: el caso del Tequila. *Agroalimentaria*, 18, 91-103.
- CANILEC, (2016a). Cámara Nacional de Industriales de la Leche. En línea: <http://www.canilec.org.mx/estadisticas-importaciones.html> Fecha de consulta: 26 de octubre de 2016.

CANILEC, (2016b). Cámara Nacional de Industriales de la Leche. En línea: <http://www.canilec.org.mx/estadisticas-tendencias.html> Fecha de consulta: 26 de octubre de 2016.

Capece, A. y Romano, P. (2009). "Pecorino di Filiano" cheese as a selective hábitat for the yeast species, *Debaryomyces hansenii*. International Journal of Food Microbiology. 132, 180-184.

Cardinali, F., Taccari, M., Milanović, V., Osimani, A., Polverigiani, S., Garofalo, C., Foligni, R., Mozzon, M., Zitti, S., Raffaelli, N., Clementi, F., Aquilanti, L. (2016). Yeast and mould dynamics in Caciofiore de Ila Sibilla cheese coagulated with an aqueous extract of *Carlina acanthifolia* All. Wiley Online Library. Yeast 33, 403-414

Cervantes, E. F., Villegas, G. A., Cesín, V., A., y Espinoza, O. A. (2013). Los quesos mexicanos genuinos patrimonio cultural que debe rescatarse, (2ª), Guadalajara, Jalisco, México, bba.

Chombo, P. (2008) "El queso Cotija región de origen, un caso especial" en F. Cervantes *et al.* (comps), Los quesos mexicanos genuinos: patrimonio cultural que debe rescatarse. México, Mundi-prensa, pp.149-162.

Cornejo, R. A., Díaz, S. A., Aguilar, R. B., y Munive, R. M.G. (2014). Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos. 1er.Ed. México. SEMARNAT.

Desai, N. T., Shepard, L., y Drake, M. A. (2013). Sensory properties and drivers of liking for Greek yogurts. Journal Dairy Science, 96, 7454-7466.

Dolores, M. P. (2009). Identificación de levaduras en el queso Cotija por métodos moleculares dependientes e independientes de cultivo,

(ARDRA, RFLP y DGGE), Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de México.

Duarte, F. W., Dias, R. D., Oliveira, M. J., Vilanova, M., Teixeira, A. J., Silva, A. J.B., y Schwan, F. R. (2014), Raspberry (*Rubus idaeus L.*) wine: Yeast selection, sensory evaluation and instrumental analysis of volatile and other compounds, *Food Research International*, 43, 2303-2314, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.08.003>

Elliot T. Ryser, T. E., (2012). Safety of Dairy Products *In* Oayarzabal, A. O., and Backert, S., (Eds.), (139), *Microbial Food Safety*, Springer New York Dordrecht Heidelberg London, DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4614-1177-2>

FAO, (2016). Producción y productos lácteos. Producción Lechera. En Línea: http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/produccion-lechera/es/#.WA_gjuDhDIV Fecha de consulta: 25 de octubre de 2015.

Fonte, M. y Acampora, T. (2007). Productos típicos, estrategias de desarrollo rural y conocimiento local. Pp. 191-212

Fox, P. F, Cogan, T. M. (2004) Factors that affect the quality of cheese. *In* Fox PF, McSweeney PLH, Cogan TM, Guinee TP (Eds.) *Cheese: chemistry, physics and microbiology*, volume 1: General aspects, 3rd edn. Elsevier, Oxford, pp 583–608

Gallardo, G., Ruiz-Moyano, S., Hernández, A., Benito, M. J., Córdoba, M. G., y Pérez-Nevado, F. (2014). Application of ISSR-PCR for rapid strain typing of *Debaryomyces hansenii* isolated from dry-cured Iberian ham. *Food Microbiology*, 42, 205-211

- Gkatzionis, K., Yunita, D., Linforth, R. S. T., Dickinson, M., y Dodd, C. E. R. (2014). Diversity and activities of yeast from different parts of a Stilton cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 177, 109-116
- Gobierno del Estado de Jalisco (2016). En línea: <http://www.jalisco.gob.mx/es/jalisco/municipios/atengo> Fecha de consulta: 20 de octubre de 2016.
- Gómez, M. A.C. y Caldentey, A. P. (1996). Productos típicos, territorio y competitividad. *Agricultura y sociedad*, no. 80-81. (pp.57 - 82).
- Gonano, S. (1997). "The agro-industrial district of the Castelmagno cheese", Proceedings of the 52nd EAAE Conference, Parma, Typical and Traditional Products: Rural Effect and Agro-industrial Problems
- González, A., y Aguirre, X. (2007). Inter Simple Sequence Repeats (ISSRs) *In* Eguiarte, E. L., Souza, V., y Aguirre, X. (Eds.), *Ecología molecular* (567), Periférico sur 500, col. Insurgentes Cuicuilco, 04530. Delegación Coyoacán, México, D.F.
- Guerrero L., Guardia M D., Xicola J., Verbeke W., Vanhohacker F., Zakowska-Biemans S., Sajdakowska M., Sulmont-Rosse C., Issanchou S., Contel M., Scalvedi M L., Granli B S. (2009). Consumer-driven definition the tradition food products and innovation in traditional foods. A qualitative cross-cultural study. *Appetite* 52, 345-354.
- Guo, T., Xin, Y., Zhang, C., Ouyang, X., y Kong, J. (2016). The potential of the endolysin Lysdb from *Lactobacillus delbrueckii* phage for combating *Staphylococcus aureus* during cheese manufacture from raw milk. *Appl Microbiol Biotechnol*, 100, 3545-3554, DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-015-7185-x>

Hatoum, R., Labrie, S., y Fliss, I. (2013). Identification and Partial Characterization of Antilisterial Compounds Produced by Dairy Yeast. Springer Science Bussines Media, LLC, DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12602-012-9109-8>

Hernández, M. A. (2007). Evaluación Sensorial de Productos Agroalimentarios. Universidad Autónoma Chapingo. Edo. México.

Hernández, M. C., Hernández, M. A., Aguirre, M. E., y Villegas, de G. A. (2010). Physicochemical, microbiological, textural and sensory characterisation of Mexican Añejo cheese, International Journal of Dairy Technology, 63, 552-560, DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00615.x>

Ianieva, D. O., Voromina, O. G., and Pidgorskyi, S. V. (2013). Isolation and Characteristic of Lactose-Fermenting Yeast Candida Kefyr. In Cytology and Genetics. Vol, 47, No. 6, pp, 359-365.

IFCN, (2010). Dairy Report. Situación actual y tendencias de la producción actual de la leche. En línea: <http://www.ifcndairy.org/en/news/2010/11/DR2010extract.php> Fecha de consulta 25 de octubre de 2016.

INEGI (2016), Instituto Nacional d Estadística y Geografía, Agricultura, ganadería, silvicultura y pesca, En línea; <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/sisept/default.aspx?t=agr08ys=estyc=24883> Fecha de consulta: 25 de octubre 2015.

INEGI, (2016). Agricultura, ganadería, silvicultura y pesca. En línea: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/sisept/default.aspx?t=agr08ys=estyc=24883> Fecha de Consulta: 25 de octubre de 2015.

- Knight, J. A., Worosz, R. M., Todd, D. C.E., Bourquin, D. L., and Harris, K. C. (2008). *Listeria* in raw milk soft cheese: A case study of risk governance in the United States Using the IRGC framework In Walker, K., y Renn, O. (Eds.) *Global risk governace*, (183), Dordrecht, The Netherlands, Springer, ISBN 978-1-4020-6799-0
- Laminé, C. (2015). Sustainability and Resilience in Agrifood Systems: Reconnecting Agriculture, Food and the Environment, *Sociologia Ruralis*, 55, 41-61, DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/soru.12061>
- Larpin, S., Mondoloni, C., Georges, S., Vernoux, Jean-Paul., Guéguen, M., y Desmasures, N. (2006). *Geotrichum candidum* dominates in yeast population dynamics in Livarot, a French red-smear cheese. *FEMS Yeast Res* 6, 1243–1253, doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1567-1364.2006.00127.x>
- Lawless, T. H. and Heymann, H. (2010). *Sensory Evaluation of Food. Principles and Practices*. (2^a ed.), New York, Springer, DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4419-6488-5>
- LeJeune JT, y Rajala-Schultz PJ. (2009). Food safety: unpasteurized milk: a continued public health threat. *Clinical Infection Disease*, 48,93-100
- Linck, T., Barragán, L. E., y Casablanca, F. (2006). De la propiedad intelectual a la calificación de los territorios: lo que cuentan los quesos tradicionales. *Agroalimentaria*, No. 22, enero-junio, 99-109.
- Little, C. L., Rhoades, J. R., Sagoo, K. S., Harris, J., Greenwood, M., Mithani, V., Grant, K., y McLauchlin, J. (2008). Microbiological quality of retail cheeses made from raw, thermized or pasteurized milk in the UK. *Food Microbiology*, 25, 304-312, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2007.10.007>

- Mattiacci, A., y Vignali, C. (2004). The typical products within food “glocalisation”, *British Food Journal*, 106, 703-713, DOI: <http://dx.doi.org/10.1108/00070700410561333>
- Meilgaard, M. C., Vance, C. A., y Carr, T. (2003) *Sensory Evaluation Techniques*.
- Millán, V. M.G., Amador, L. y Arjona, F. J.M. (2016). La denominación de origen protegida “Los Pedroches” como ruta gastronómica del jamón ibérico: análisis del perfil del visitante y evolución futura. *Cuadernos de Desarrollo Rural*, 13(77), 63-91, DOI: <http://dx.doi.org/10.11144/Javeriana.cdr13-77.dopp>
- Montel, M.C., Solange, B., Mallet, A., Paus, D. C., Vuitton, A. D., Desmasure, N., Berthier, F. (2014). Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. *International Journal of Food Microbiology*, 177, 136–154, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.019>
- Muchnik, J. (2004). Identidad territorial de los alimentos: Alimentar el cuerpo humano y el cuerpo social. Director de investigaciones INRA (SAD/UMR Innovation Montpellier). Director del GIS SYAL. Congreso internacional agroindustrial rural y territorio. Toluca estado de México.
- Nagy, E., Dlačny, D., Medeiro, O. A., Péter, G., y Rosa, A. A. (2014). *Yarrowia porcina* sp. nov. And *Yarrowia bubula* f.a. sp. nov., two yeast species from meat and river sediment. *Antonie van Leeuwenhoek*, 105, 697–707, DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10482-014-0125-4>
- Naumova, E. S., Naumov, G. I., Nikitina, T. N., Sadykova, A. Zh., and Kondratieva, V. I. (2012). Molecular Genetic and Physiological Differentiation of *Kluyveromyces lactis* and *Kluyveromyces marxianus*:

Analysis of Strains from the All-Russian Collection of Microorganisms (VKM), *Microbiology*, 81, 216-223

Ng, M., Lawlor, J.B., Chandra, S., Chaya, C., Hewson, L., y Hort, J. (2012). Using quantitative descriptive analysis and temporal dominance of sensations analysis as complementary methods for profiling commercial blackcurrant squashes. *Food Quality and Preference*, 25, 121-134.

Nguyen-the, C., Bardin, M., Berard, A., Berge, O., Brillard, J., Broussolle, V., Carlin, F., Renault, P., Tchamitchian, M., y Morris, E. C. (2016). Agrifood systems and the microbial safety of fresh produce: Trade-offs in the wake of increased sustainability. *Science of the Total Environment*, 562, 751-759, DOI: <http://dx.doi.org/10.16/j.scitotenv.2016.03.241>

Nocker, A., Burr, M., and Camper, A. K. (2007). Genotypic microbial community profiling: A critical technical review. *Microbiology Ecology* 54, 276-289.

Nosi, C., y Zanni, L. (2004). Moving from “typical products” to “food-related services” *British Food Journal*, 106, 779-792, DOI: <http://dx.doi.org/10.1108/00070700410561388>

OECD/FAO, (2016). *OECD-FAO Agricultural Outlook 2016-2025*, OECD Publishing, DOI: http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2016-en

Ortolani, T. M.B., Yamazi, K. A., Maraes, M. P., Viçosa, N. G., y Nero, A. L. (2010). Microbiological Quality and Safety of Raw Milk and Soft Cheese and Detection of Autochthonous Lactic Acid Bacteria with Antagonistic Activity Against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Spp.*, and *Staphylococcus aureus*. *Foodborne Pathogens and Disease*, Vol. 7, 2, DOI: <http://dx.doi.org/10.1089/fpd.2009.0390>

- Poméon, T., y Cervantes, E. F. (2012). El sector lechero y quesero en México en las últimas décadas *In* Cervantes, E. F. y Villegas, G. A. (Eds.), *La leche y los quesos artesanales en México*, (pp. 7-50), México, D.F., La Porrúa.
- Price, J. E., Linforth, S. R., Dodd, E. R.C., Phillips, C. A., Hewson, L., Hort, J., y Gkatzionis, K. (2014). Study of the influence of yeast inoculum concentration (*Yarrowia lipolytica* and *kluveromyces lactis*) o blue cheese aroma development using microbiological models. *Food Chemistry*, 145, 464-472.
- Psomas, E., Andrighetto, C., Litopoulou-Tzanetaki, E., Lombardi, A., and Tzanetakis, N. (2001). Some probiotic properties of yeast isolates from infant faeces and Feta cheese. *Int J Food Microbiol* 69, 125–133
- Quigley, L., O’Sullivan, O., Stanton, C., Beresford, T., Ross, P. R., Fitzgerald, F. G., y Cotter, D. P. (2013). The complex microbiota of raw milk cheese. *FEMS microbiology Rev* 37, 664-698.
- Ramila, AZAT., Yan, LIU., Wei, LI., Abdurhim, KAYIR., Ding-bo, LIN., Wenwen, ZHOU., y Xiao-dong, ZHENG. (2016). Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally fermented Xinjiang cheese. *College of Biosystems Engineering and Food Science, Fuli Institute of Food Science, Zhejiang* 17(8):597-609
- Ramírez, E. (2007). *La identidad como elemento dinamizador de la economía territorial*. Investigadora principal del Centro Latinoamericano para el Desarrollo Rural, Rimisp.
- Rentaría, A. M. (2007). Breve revisión de marcadores moleculares *In* Eguiarte, E. L., Souza, V., y Aguirre, X. (Eds.), *Ecología molecular*

(541), Periférico sur 500, col. Insurgentes Cuicuilco, 04530. Delegación Coyoacán, México, D.F.

Ryffel, S., Piccinali, P., y Bütikofer, U. (2008). Sensory descriptive analysis and consumer acceptability of selected Swiss goat and sheep cheeses. *Small Ruminant Research*, 79, 80-86, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.07.006>

SAGARPA, (2016). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación Subsecretaría de Fomento a los Agronegocios. En línea: <http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/EBespa%C3%B1ol300909.pdf> Fecha de consulta: 26 de octubre de 2016.

SAGARPA-SIAP, (2016). Red agropecuaria-web (RAW). http://raw.siap.gob.mx/raw/reportepecuario/pecuario_programa.php En línea. Fecha de consulta: 25 de octubre de 2016.

Sánchez C. A., Villegas de G. A., Santos M. A., Hernández M. A (2012). Caracterización del queso adobera de Atengo, Jalisco. Ed. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México

Šarić, Ć. L., Šarić, B. M., Mandić, I. A., Hadnađev, S. M., Gubić, M. J., Milovanović, Lj. I., y Tomić, M. J. (2016). Characterization of extra-hard cheese produced from donkeys and caprine milk mixture. *Dairy Science y Technology*, 96, 227–241.

Saxer, S., Schwenninger, M. S., Lacroix, C. (2013). Characterization of the microbiota of industrial Mexican cheeses produced without added chemical preservatives. *LWT-Food Science and Technology*, 53, 314-320, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.01.016>

- Shao, Y., Xu, L., y Chen, F. (2011). Genetic diversity analysis of monascus strains using SRAP and ISSR markers, *Mycoscience*, 52, 224-233. DOI: <http://10.1007/s10267-010-0087-y>
- Singh, J., Batish, K. V., y Grover, S. (2012). Simultaneous detection of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp., in dairy products using real time PCR-melt curve analysis. *Journal Food Science and Technology*, 49(2), 234-239, DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-011-0278-3>
- Soka, S., & Irene, M. (2013). Molecular analysis of yeast from Indonesian Cassava and Glutinous Rice Tapé. *Food science biotechnology*, 22 (4), 993-997, DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10068-013-0175-9>
- Tofalo, R. y Suzzi, G. (2016). *Yeasts*. University of Teramo, Mosciano Sant'Angelo (TE) Italia. Elsevier Science.
- Van Duynhoven, Y. T.H.P., Isken, L. D., Borgen, K., Besselse, M., Soethoudt, K., Haitisma, O., Mulder, B., Notermans, D. W., Jonge, R., Kock, P., Van Pelt, W., Stenvers, O. (2009). A prolonged outbreak of *Salmonella* Typhimurium infection related to an uncommon vehicle: hard cheese made from raw milk. *Epidemiology Infection*, 137, 1548–1557, DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268809002337>
- Viçosa, N. G., Moraes, M. P., Yamatzi, K. A., y Nero, A. L. (2010). Enumeration of coagulase and thermonuclease-positive *Staphylococcus* spp., in raw milk and fresh soft cheese: An evaluation of Baird-Parker agar, Rabbit Plasma Fibrinogen agar and the Petrifilm™ Staph express count system. *Food Microbiology*, 27, 447-452, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2009.12.007>
- Villegas de G., A. (1993). *Los quesos Mexicanos*. CIESTAAM-UACH. México.

Villegas, de G. A. (2012). Tecnología quesera, (2ª ed), México, Trillas

Villegas, G. A., y Cervantes, E. F. (2011). La genuinidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales mexicanos, 19 (38), 146-164

Yoon, Y., Lee, S., y Choi, H. K. (2016). Microbial benefits and risks of raw milk cheese. Food Control, 63, 201-215.

Zeinhom, A. M.M., Abdel-Latef, K. G., and Jordan, K. (2015). The Use of Multiplex PCR to Determine the Prevalence of Enterotoxigenic Staphylococcus aureus Isolated from Raw Milk, Feta Cheese, and Hand Swabs. Journal of Food Science, 80, Nr 12, DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.13147>

Zeinhom, A. M.M., y Abdel-Latef, K. G. (2014). Public health risk of some milk borne pathogens. Beni-suef University Journal of Basic and Applied sciences, 3, 209-215, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjbas.2014.10.006>

III EL SISTEMA AGROINDUSTRIAL LECHE - QUESO PANELA DE SOYATLÁN, JALISCO

THE MILK-PANELA CHEESE AGROINDUSTRIAL SYSTEM OF SOYTLÁN, JALISCO

Pérez-Esteban, G¹., Villegas de Gante A²

Resumen

El sistema agroindustrial (SAI) leche-queso panela de Soyatlán, Jalisco, incluye un sistema lechero de doble propósito, con hatos rústicos de cebú, charolais, y brahman; el sistema lechero es familiar. La composición fisicoquímica de la leche para queso panela oreado es de calidad tipo A, de acuerdo a la norma COFOCALEC-NMX-700-2012; por la cuenta de células somáticas (CCS) es clase 1. En el proceso de elaboración del queso panela oreado se transfiere el saber hacer que se ha transmitido de una generación a otra. Entre los pasos que resaltan en el queso panela de Soyatlán, Jalisco, es el oreado, que consiste en una ligera maduración, la fermentación debida a la microbiota presente en leche y utensilios, el tipo de sal empleado, sal de grano, y el tipo de molde (canasto o *chiquihuite*).

Palabras clave: Sistema agroindustrial, queso panela oreado, fermentación de queso panela

Abstract

The milk-panela cheese agroindustrial system (AIS) of Soyatlán, Jalisco, includes a dual-purpose milk system, with herds of cebu, charolais and brahman; the dairy system is familiar. The physicochemical composition of milk for panela oreado cheese is type-A quality, according to standard COFOCALEC-NMX-700-2012; by the somatic cell count (SCC), it is class 1. The know-how for making the cheese has been transmitted from one generation to another. Among the steps that stand out in the making of panela cheese of Soyatlán, Jalisco, is the *oreado* (left to dry) process, which consists of a slight maturation, fermentation due to the microbiota present in milk and utensils, the type of salt used, sea salt, and the type of mold (basket or *chiquihuite*).

Keywords: Agroindustrial system, panela cheese, fermentation of panela cheese

Tesis de Maestría en Ciencias en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingoⁱ

¹Autor: Guillermo Pérez Esteban

²Director de Tesis: M.C. Abraham Villegas de Gante

3.1 INTRODUCCIÓN

En un contexto globalizado, diversos sistemas agroalimentarios coexisten. Algunos productos proceden de una zona geográfica, donde el cultivo y procesamiento preliminar se llevan a cabo en el país de origen, mientras que los procesos de la adición de más alto valor se llevan a cabo cerca del mercado final. Para otros productos, existe un proceso de producción enraizado; el área nacional es la base para la mejora de los actores y los recursos locales (Mancin, 2013).

El vocablo sistema agroalimentario contiene dos términos; el primero “agroalimentario” es un término que ha sido usado por estudiantes y académicos para reflejar una asociación con los actores de la cadena (sistema), y la alternativa de movimientos agroindustriales, v.g comercio justo; el segundo; sistema, es una palabra que hace hincapié en el creciente enfoque de la política sobre los sistemas alimentarios locales, regionales y comunitarios (Clark, Sharp, & Dungan, 2015).

La demanda creciente de productos con calidad ligada al origen, por parte de consumidores que desean conocer productos alimentarios originarios de un lugar, su producción, cata, forma y procesos de elaboración, ha propiciado propuestas que se relacionan con el turismo gastronómico. En esta estrategia de diferenciación de bienes, se desarrollan acciones que hacen que los productos se orienten hacia segmentos de consumos importantes y selectivos dentro del mundo del turismo (Millán *et al.*, 2016). Los actores presentes en el territorio actúan según una lógica territorial, es decir, se identifican como pertenecientes al territorio (lo que conduce a la idea de membrecía) (Gallardo, Ortiz, Ramos & Ceña, 2007), y se conocen como agentes territoriales.

En este sentido, se puede detectar tres tipos de actores en los territorios rurales: i) el Estado, en su amplia concepción como proveedor de servicios públicos, ii) la sociedad civil y las asociaciones, y iii) los actores privados que se van integrando a los procesos de desarrollo (Sánchez, Gallardo & Ceña, 2016).

La elaboración de queso constituye una salida económica sustantiva para pequeños y medianos productores de leche ante la baja rentabilidad de su actividad, originada por el incremento en los precios de los insumos para la producción y el bajo margen de apropiación del excedente en la cadena agroindustrial (Villegas & Cervantes, 2011).

El sistema agroindustrial del queso panela oreado de Soyatlán es desconocido, debido a que es un queso fresco elaborado a base de leche cruda; es por eso que el objetivo de este trabajo fue analizar, evaluar y demostrar que el sistema agroindustrial leche-queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco, puede ser una alternativa económica para los pequeños productores de leche y queso de esta localidad, ante la globalización. Además, conocer el proceso de hechura del queso panela, la raza de los hatos lecheros y el saber hacer en común, de cuatro diferentes queserías.

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1 Sistema agroindustrial (SAI)

El estudio del sistema agroindustrial (SAI) leche-queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco, se realizó mediante encuestas estructuradas y entrevistas abiertas a los actores del SAI. Las encuestas y entrevistas se realizaron en octubre 2015, a ocho productores de leche y a cuatro queseros.

Algunas preguntas que se les hizo a los productores de leche (ver Anexo 1) fueron: su edad, años de trabajar como lecheros, experiencia, raza del hato, etc.; a los maestros queseros se les aplicó una encuesta (ver Anexo 2) para conocer las técnicas (saber-hacer), es decir, su conocimiento; para conocer de manera general el proceso de hechura del queso panela oreado. El muestreo fue dirigido, no participativo; con los productores que presentaron interés y disposición en la evaluación. Además, se realizaron visitas a los ranchos, se observó la forma de ordeño, y los utensilios empleados para ordeña. En las queserías se observó en detalle el proceso de hechura, se determinó acidez de la leche en el momento de recepción, temperatura de la leche, pH de la cuajada y del producto final.

3.2.2 Características de la leche usada para la elaboración del queso

Para la caracterización de la materia prima (leche), se eligió a ocho productores en la temporada de lluvias (octubre, 2015); y también a ocho en la temporada de secas (febrero, 2016). Para evaluar la calidad sanitaria de la leche se efectuó un Conteo de Células Somáticas (CCS), con el kit “Portacheck”, según la NMX-F-

700-COFOCALEC-2012; asimismo se cuantificó la presencia de microorganismos (bacterias mesofílicas aerobias) en leche recién ordeñada, con placas de recuento aerobio (PetriFilm 3M™). Además, se realizaron análisis fisicoquímicos de las ocho leches muestreadas; se midió el pH con un potenciómetro HI98107 (Hanna Instruments, Italia), calibrado con buffer 4 y 7 (Sigma de México, México). Se determinó la acidez titulable (método 947.05; AOAC, 1995), los sólidos totales (ST); la grasa, la proteína y la densidad se evaluaron a través de espectrofotometría con el equipo MilkScan (FOSS, Dinamarca). Los análisis se realizaron por triplicado.

3.2.3 Proceso tecnológico del queso panela oreado

Se visitaron cuatro queserías, donde se efectuaron entrevistas abiertas a los maestros queseros; se les preguntó detalles, desde la recepción de la materia prima hasta sus puntos de comercialización, así como la compra de sus insumos (*i.e.* cuajo, sal, etc.). También se monitorearon casi todas las etapas del proceso de hechura del queso panela oreado; desde la ordeña, con los lecheros, hasta algunas partes del proceso como: recepción de la leche, cuajado, moldeado y salado, pH al cuajar y pH del queso panela recién hecho. Los queseros de las cuatro queserías que se visitaron, denominadas A, B, C, y D mostraron interés y disponibilidad para participar en el estudio del SAI leche-queso panela de Soyatlán.

3.2.4 Análisis estadístico

Para el análisis de la calidad fisicoquímica de la leche se utilizó un diseño en bloques completos al azar con arreglo de parcela dividida (Gutiérrez & De la Vara, 2008), en donde la parcela mayor fue la época del año y la parcela menor la quesería. La unidad experimental para la leche fue de 100 mL, con tres repeticiones; para identificar diferencias se realizaron comparaciones de medias ($\alpha=0.05$), con la prueba de diferencia de medias Tukey. Para el procesamiento de datos se utilizó el paquete estadístico SAS 9.4 (SAS Institute, Inc., Cary, NC).

3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1 Características de las explotaciones lecheras

Las microempresas de productores de leche, el eslabón primario del SAI leche-queso panela oreado, son dirigidas principalmente por sus propietarios. Prácticamente el sistema es familiar y en algunos casos el de doble propósito; el hato va desde 5 a 35 cabezas de ganado; el tipo de ganado con el que cuentan son cruza de cebú, charolais, y brahman; en temporada de verano se obtiene una producción entre 6-8 L en la única ordeña que se lleva a cabo en el día; en época de invierno la producción de leche disminuye (3 – 5 L/día).

En la ordeña se usa el becerro como apoyo para que baje la leche, es decir se deja que el becerro estimule la ubre de la vaca, para que después el vaquero prosiga con la ordeña manual. A los becerros recién nacidos se les deja un cuarto (una teta) para su alimentación. La leche se transporta en botes de aluminio a las queserías. Una vez finalizado el proceso de ordeña, se proporciona a las vacas de 2-4 kg de silo y se dejan pastando hasta al día siguiente que se realizara la ordeña correspondiente.

La materia prima, una vez en las queserías, se transforma de acuerdo al diagrama de bloques que se muestra en la Figura 6. Las queserías que se visitaron producen diferentes productos lácteos frescos y fermentados de manera rustica, empírica, con su saber hacer que los caracteriza, y parte fundamental para la especificidad de este producto tradicional; por lo regular los quesos de leche cruda se elaboran con métodos tradicionales porque la leche cruda requiere técnicas adecuadas (Montel *et al.*, 2014).

3.3.2 Sistema Agroindustrial Leche – Queso Panela Oreado

La elaboración de queso constituye una salida económica sustantiva para pequeños y medianos productores de leche ante la baja rentabilidad de su actividad, originada por el incremento en los precios de los insumos para la producción y el bajo margen de apropiación del excedente en la cadena agroindustrial (Villegas & Cervantes, 2011).

En la representación del SAI (Figura 5) se observa que los eslabones del sistema están bien definidos: lecheros (productores primarios), queseros (productores secundarios) y vendedores (productores terciarios), aunque estos últimos por lo regular pertenecen al mismo eslabón, el segundo.

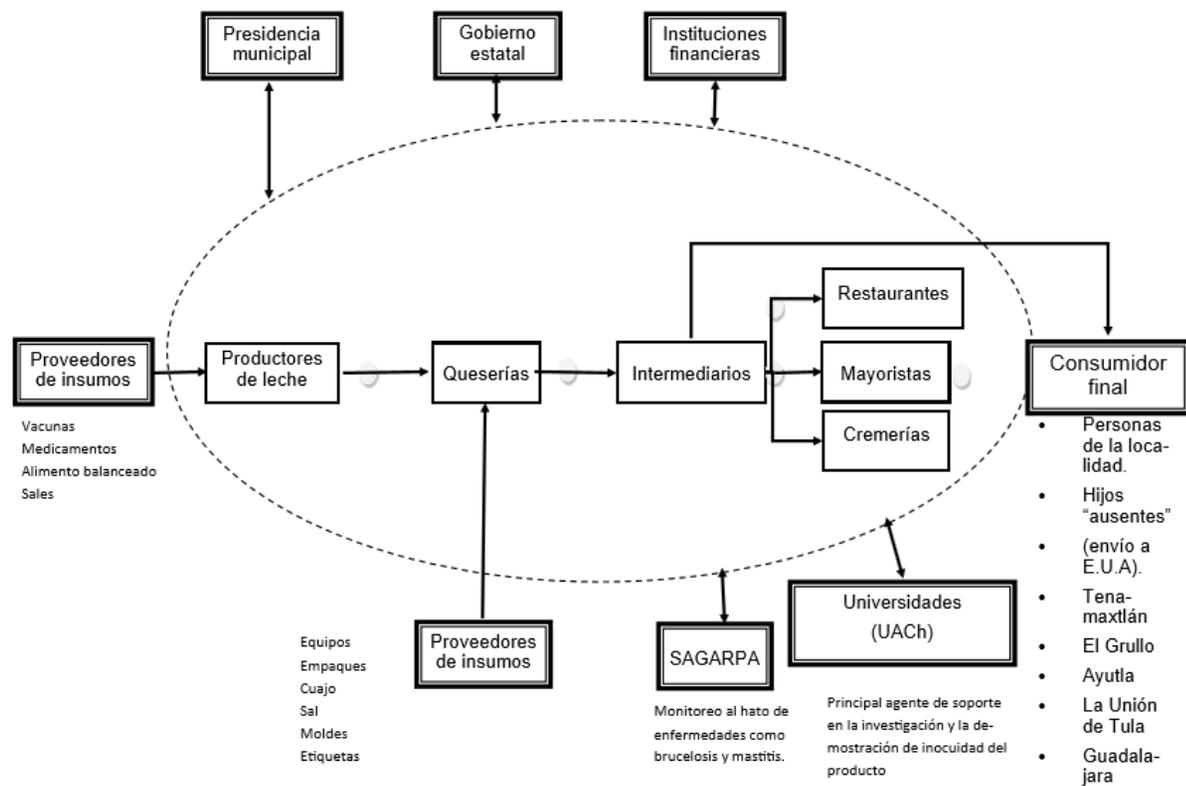


Figura 5. Sistema agroindustrial del queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco

El eslabón primario cuenta con hatos de diversas razas y cruza de cebú, debido a su adaptación al clima; las vacas rústicas pastan todo el día, se les da un poco de alimento en ambas temporadas, pero su principal alimento es el pasto "chino", como es comúnmente conocido en la zona de Soyatlán.

El eslabón secundario aplica conocimiento empírico y transforma la materia prima, que se materializa en un gran queso tradicional mexicano, fresco u oreado, con calidad territorial, con un conocimiento transmitido de una generación a otra (Villegas, 2012) y, sobre todo, con una gran riqueza sensorial. Los utensilios empleados para elaboración de este queso son pequeños chiquihuites, como moldes, y palas de madera para el agitado de la leche.

El queso panela oreado de Soyatlán se comercializa a nivel local y regional. Así, el sistema de leche-queso panela oreado, contiene recursos naturales, cognitivos, sociales y ambientales en el tipo y el "sistema" resultante, que comprende una riqueza compartida en el área entre la comunidad de productores y otros actores (Macin, 2013).

La interacción entre actores del sistema es común y se genera confianza; se dice que la confianza es un concepto complejo, que a menudo es considerada como una variable clave de éxito y estabilidad de asociación comercial (Prigent & Herault, 2005). Además, se genera capital social entre los actores debido a su proximidad; este indica el grado de confianza existente entre los actores sociales de una sociedad (Kliksberg, 1999).

En sintonía con las recientes tendencias en la demanda de alimentos de los consumidores a escala global, en bastantes países se observa un importante giro en las estrategias productivas de los agricultores hacia la diferenciación de sus productos, con base en criterios de calidad (Millán *et al.*, 2016). Es por eso que los SAI constituyen una estrategia para fortalecer la economía local; además, el consumidor requiere de productos especializados, únicos, y con características sensoriales sobresalientes, distintos a algunos productos homogéneos sensorialmente.

El territorio de Soyatlán, Jalisco, puede ser un factor que influya en las ventas, debido a la territorialidad. Esto puede ser parte de la estrategia comercial de los quesos tradicionales que se producen en esa zona, ya que las estrategias territoriales, pueden ser usadas como etiquetas o sellos de una zona de origen; como herramientas articuladas a la promoción del desarrollo de productos agroindustriales de los territorios rurales, si el territorio muestra diferentes grados de participación y cooperación entre los actores que pertenecen a la cadena agroalimentaria (Aranda, Gómez & Ramos, 2014).

La espacialidad o conjunto de relaciones que existen en un territorio, es el resultado del proceso de construcción social que se basa en esos activos que no se encuentran en ningún otro lugar (Millán *et al.*, 2016). Por lo tanto, los queseros tradicionales tienen una interacción socioecológica (interacción hombre-sistema ecológico) por la relación que se establece entre los actores territoriales y el medio físico con el territorio (Sánchez *et al.*, 2016). Así que los SAI en desarrollo (pequeñas cadenas como las de las queserías tradicionales), desde el punto de vista socio-económico, se deben de ver como sustentables, ya que ofrecen productos seguros, amigables con el medio ambiente, nutritivos, frescos, que apoyan la economía local, además de pertenecer a un territorio que da mayor diferenciación al producto.

El sistema agroindustrial del queso panela oreado de Soyatlán es sustentable, ya que el concepto de sustentabilidad implica una ética con responsabilidad de la sociedad hacia la naturaleza (Wilkinson, 2015); y en la clasificación de Nguyen-the *et al.* (2016) corresponde a un sistema tradicional; aunque no existe trazabilidad y se aplican pocas reglas establecidas para la regulación. Por tanto, el SAI queso-panela oreado es una alternativa económica en los mercados globalizados, ya que los productos típicos abren la posibilidad de elaborar nuevas estrategias colectivas de desarrollo rural (Fonte & Acampora, 2007), y generar una mayor demanda y mejores precios.

3.3.3 Características de las queserías

En el Cuadro 1 se muestra los resultados de los cuestionarios aplicados en las queserías visitadas. Se observa que la gente que elabora el queso panela fresco y oreado que se dedica a la quesería (encuestados) es de edad avanzada, factor que influye en la extinción de los quesos mexicanos genuinos; también se observa que el queso panela oreado tiene al menos un siglo de vida, esto se deduce de las entrevistas, donde algunos productores narran que en su infancia consumían queso panela; desde entonces ya se elaboraba.

El queso panela fresco de Soyatlán Jalisco; se elabora a base de leche cruda, es de pasta blanda, tajable, con un alto contenido de humedad (54 a 58 %), ligeramente fermentado, con 24 a 72 horas de haberse producido; mientras que el oreado, es el queso panela fresco que ha sido colocado en zarzos dentro de la quesería y debido a la temperatura del entorno, éste se “orea”, de ahí el nombre que se le asigna. Se puede llamar oreado al queso que ha sido expuesto en zarzos entre 4 y 15 días; la composición cambia, y debido a la exposición al aire, éste ligeramente se acentúa de color amarillo, característico del queso panela oreado por el contenido de grasa y de betacarotenos de la leche; además, pierde humedad.

Cabe mencionar que los panelas oreados, son elaborados sobre pedido; su venta es en la región, y para el mercado de la nostalgia, constituido por migrantes, que se encuentran principalmente en EUA, que añoran alimentos propios de su tierra de origen, v.g. el queso panela oreado, ya que al probar tal alimento evocan su infancia y sus vivencias de su tierra natal, etcétera

Cuadro 1. Perfil de los queseros encuestados de seis queserías de Soyatlán, Jalisco

Quesería	Productor	Edad (años)	Escolaridad	Productos que oferta	Antigüedad de oficio (años)	Volumen procesado (L)	Proveedores (Lecheros)
Doña Elena García	Sra. Elena García	80	Primaria truncada	Adobera y panela	50	50-100	1
El tesoro	Sra. Martha	40	Primaria	Panela, queso de mesa (Adobera), queso de quesadilla (adobera)	20	200-300	1
Lupita Moreno	Sra. Guadalupe Moreno	63	Secundaria	Panela, queso fresco de mesa (Adobera), Queso de quesadilla (adobera)	40	>300	6
Lorena Partida	Sra. Lorena Partida	64	Primaria	Panela, Queso de mesa (Adobera), queso de quesadilla (Adobera)	40	50-100	1
Soyatlán del Oro	Sra. Victoria Martínez Paz	70	Primaria	Panela, Queso de mesa (Adobera), queso de quesadilla (Adobera), Cotija	40	100-200	2
Gregorio Landeros	Sra. María Antonieta Estrada	68	Primaria	Panela Oreado	50	50 (Sólo pedidos)	No

Fuente: Elaboración propia con datos de campo.

Los actores del eslabón secundario tienen una formación educativa a nivel primaria, en su mayoría, y la producción de queso es muy pequeña y convencional. Los utensilios usados en las queserías son algunas palas de madera, tinas de acero inoxidable y, principalmente, contenedores de plástico. Este tipo de quesos tradicionales muestran diferentes tipos de calidad que en la actualidad el consumidor busca; por esto Knight *et al.* (2008) mencionan que la calidad es un mecanismo de mercado importante para muchos pequeños productores, especialmente para queseros. También se demuestra que ciertos estudios han encontrado que los consumidores buscan deliberadamente quesos suaves de leche cruda, porque éstos son percibidos como más frescos, más naturales, por su complejidad de sabor y de historia. Actualmente, muchos consumidores están interesados en saber quién produce el queso, el origen de éste y las prácticas de elaboración.

3.3.4 Calidad de la leche en quesería

La composición fisicoquímica de la leche utilizada para el proceso de elaboración en queso panela oreado se muestra en el Cuadro 2. Se observa que la leche presenta un pH casi neutro (6.67 ± 0.08), también se observa que el porcentaje de grasa en las ocho leches muestreadas en tiempo de lluvias (verano) es de 3.98 ± 0.80 % mientras que en época de estiaje (invierno) es de 3.55 ± 0.59 %, por lo tanto existe diferencia estadística significativa entre temporadas; posiblemente esto sea por la alimentación de las vacas, que varía en cada época, ya que para la temporada de lluvias, son alimentadas con pasto fresco y maíz molido, mientras que en la temporada de secas solo se les da maíz molido con silo.

Sobre la influencia de la alimentación de las vacas en la calidad de la leche, Frelich *et al.* (2012), encontraron que el tipo de alimentación influye sobre la cantidad de grasa y Chilliard *et al.* (2007) y Bauman, Mather, Wall & Lock (2006) afirman que una alta concentración de ácido linoleico en plantas, el precursor de

otros ácidos C:18 producidos por biohidrogenación en el rumen y por las glándulas mamarias (CLA, ácido oleico), puede ser responsable para estos cambios en la composición de la grasa de la leche.

Mientras que DairyCo (2016) reportó que la leche producida en el periodo de otoño (2013-2015) tuvo un ligero incremento en contenido de grasa; las vacas cebuinas están adaptadas a la zona y su tipo de alimentación en otoño, que consiste en pasto seco y silo (Bonfroh *et al.*, 2005), lo que provoca un aumento en materia grasa. Además, el ganado que se emplea es de doble propósito y Mohammed *et al.* (2016) sostienen, que el sistema de doble propósito se caracteriza por el uso de cruza de razas *Bos taurus* x *Bos indicus* (cebú) y se basa en el pastoreo de pastos, que ofrecen bajo costo para alimentar al ganado.

Cuadro 2. Composición de la leche para la elaboración del queso panela oreado de Soyatlán (por época).

Componente	Lluvias (verano)		Secas (invierno)	
Grasa (%)	3.98 ^a	± 0.80	3.55 ^b	± 0.59
Proteína (%)	3.69 ^a	± 0.14	3.37 ^b	± 0.27
Lactosa (%)	4.31 ^b	± 0.17	4.60 ^a	± 0.20
SNG (%)	9.00 ^a	± 0.15	9.18 ^b	± 0.33
ST (%)	13.26 ^a	± 0.77	12.57 ^b	± 0.65
Humedad (%)	59.94 ^a	± 0.78	58.57 ^b	± 2.03
pH	6.67	± 0.08	6.70	± 0.09
Acidez*	1.62	± 0.51	1.65	± 0.46
Temperatura (°C)	28.5 ^a	± 1.30	22.5 ^b	± 1.30
Densidad a 15 °C g*mL ⁻¹	1.031 ^a	± 0.99	1.031 ^a	± 1.48
CCS (CS*mL ⁻¹)	387.5	± 210.1	225	± 133.63
MAT (ufc*mL ⁻¹)	6.66	± 0.51	5.57	± 0.30

SNG = sólidos no grasos.

ST = sólidos totales.

*mg de ácido láctico mL⁻¹ de leche.

CCS = cuenta de células somáticas.

MAT = mesófilos aerobios totales

Medias en filas con superíndice diferente, son estadísticamente significativos ($\alpha=0.05$).

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

Las vacas que se ordeñan en Soyatlán, Jalisco, son de libre pastoreo, pastan desde la mañana hasta la tarde y sólo se práctica una ordeña al día; son animales libres de estrés, la vaca es estimulada por el becerro, no con la inyección de oxitocina. Estos animales están adaptados al medio ambiente; en temporada de estiaje parte del invierno, estas vacas no sufren de alguna enfermedad por frío.

En cuanto a la proteína de la leche, se observa en el Cuadro 2, que también existe diferencia entre las dos épocas, siendo la época de lluvias más alta ($3.69 \pm 0.14 \%$); con este resultado la leche que se emplea para el queso panela oreado se encuentra dentro de la NMX-F-700-COFOCALEC-2012, donde indica que el mínimo de proteína propia de la leche es de 30 g/L, lo que lo convierte en una leche rica en proteínas; esto también se corrobora con la acidez de 1.62 ± 0.51 y 1.65 ± 0.46 mg/mL para lluvias y secas, respectivamente. Toledo, Andrén & Björck (2002) reportaron que en pequeños hatos (15 vacas), la media de proteínas de 3.35 %, mientras que en hatos grandes (40 vacas) 3.39 %.

La lactosa presentó diferencia significativa entre las dos temporadas, mientras que Chen, Lewis & Grandison (2014) no encontraron diferencia significativa en temporadas de verano e invierno, además, también obtuvo un rango entre 4.52 % – 4.69 %, y afirman que la leche cruda varía con las estaciones del año, estado de lactancia, alimentación, estado saludable de la vaca, los intervalos de ordeño, los factores genéticos.

Los SNG también muestran diferencia estadística significativa, la NMX-F-700-COFOCALEC-2012 indica que 83 g/L es la mínima para este parámetro y de acuerdo a este estudio se ve en el Cuadro 2, que en las dos temporadas muestreadas se encuentra ligeramente arriba de lo establecido por la norma; esto quizá porque en su alimentación, en la temporada de secas comen rastrojo y en la temporada de lluvias rastrojo, maíz y psato fresco.

La CCS presenta una media de 387 000 CS/mL en tiempo de lluvias, esto debido a que en esta temporada hay más humedad y la humedad, lo que es un factor importante para la proliferación de microorganismos, mientras que para el tiempo de secas se observa que disminuyó (225 000 CS/mL). Con esto las leches que

se utilizan para la elaboración del queso panela oreado están dentro del rango establecido por la NMX-F-700-COFOCALEC-2012, donde las diferentes calidades de leches se clasifican por clase y la leche con menor cuenta de CS/mL es la clase uno, con parámetros de $\leq 400\ 000$ CS/mL.

Se puede inferir que las vacas de la localidad de Soyatlán se encuentran en buen estado de salud (en las temporadas muestreadas), esto es argumentado por Cretescu *et al.* (2014), quienes citan que el CCS es usado como un indicador del nivel de salud de la ubre de las vacas; así una cuenta alta de CCS está relacionado a presencia de mastitis, aunque no siempre es el caso.

Cabe mencionar que la temperatura y humedad del ambiente son importantes, y para la temporada de lluvias la temperatura promedio fue de 28.5 ± 1.30 °C y la humedad de $(59.94 \pm 0.78 \%)$, algo similar encontró Bonfoh *et al.* (2005), quienes evaluaron leche de vacas cebuinas, pero con una temperatura ambiente promedio de 39 °C, en la que obtuvo una media de 645 000 CS/mL. Lo que se puede concluir, es que las condiciones de calor provocan daños en la ubre y esto se manifiesta en la CCS; por otro lado, en la temporada invierno el CCS fue de 225 000 CS/mL, esto debido a la temperatura de la leche con 22.5 ± 1.30 °C y a la humedad $58.57 \pm 2.03 \%$.

En sí, la materia prima, leche, es de calidad tipo A como lo indica la NMX-F-700-COFOCALEC-2012. Por otro lado un factor que afecta la demanda de leche en la zona es la estacionalidad; en época de lluvias la producción se incrementa y el precio disminuye, mientras que en la época de sequía la producción disminuye y el precio se incrementa, situación que beneficia a las UPL con acceso a riego (Espinosa, Arriaga, Boucher & Espinoza, 2010).

3.3.5 Proceso de hechura del queso panela de Soyatlán, Jalisco

De acuerdo con las encuestas realizadas a seis queseros, se observa en el diagrama de bloques “promedio” en la Figura 6 y en el Cuadro 3, que el proceso

de elaboración del queso panela oreado es similar entre productores; por lo tanto, se dice que existe un conocimiento empírico entre ellos, de su saber hacer, de sus técnicas que sólo entre ellos comparten y difunden, ese saber se ve reflejado en el producto final.

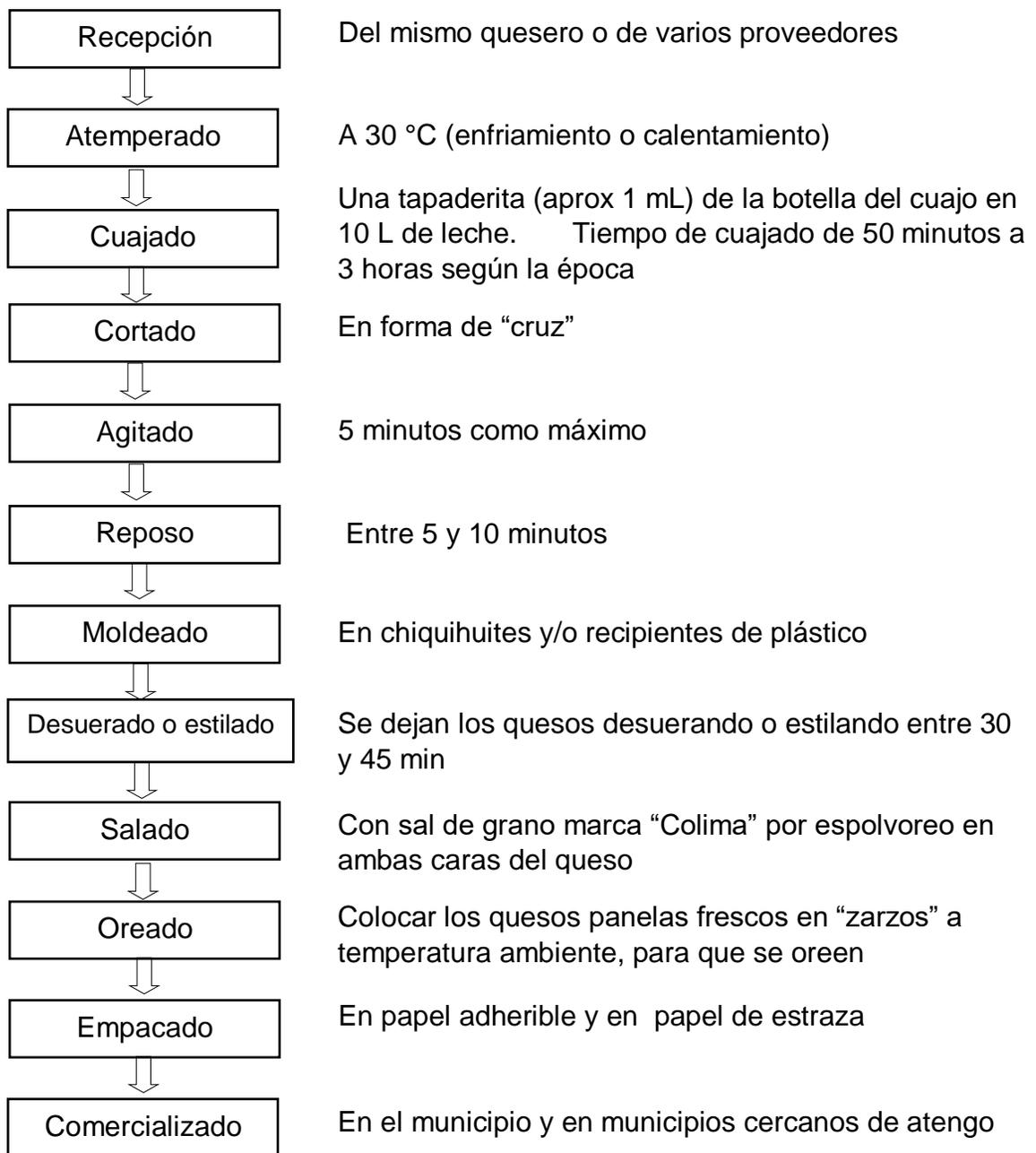


Figura 6. Diagrama de bloques del proceso general de elaboración del queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco.

El tiempo transcurrido desde la ordeña al cuajado varía, según sea la temporada; en verano, para poder cuajar la leche se espera entre 3 y 5 h, mientras que en invierno la adición de cuajo es inmediatamente después de la recepción de la leche, ya que por la temporada (invierno) la temperatura baja y la leche se enfría muy rápido, La temperatura no se mide con termómetro; los maestros queseros sólo “tientan” la leche, y de acuerdo a su experiencia, toman decisiones de cuajar o esperar. El tiempo de cuajado difiere entre temporadas; para verano es entre 30 a 50 min, mientras que en invierno puede ser de 1.5 a 3 h.

Las encuestas arrojaron que los seis productores utilizan cuajo enzimático, marca “Guadmex”, que adquieren en la Ciudad de Guadalajara; los utensilios utilizados en el proceso son de plástico y madera, meramente rústicos. Una vez cuajada y cortada la cuajada, ésta recibe un tratamiento de agitación por 5 min como máximo, lentamente, para seguir con el moldeo en recipientes de plástico (coladeras) y principalmente chiquihuites. Posteriormente a este proceso, se “estila” el queso o “la panela” como se conoce en Soyatlán; este paso consiste en desuerar el producto de manera natural (autoprensado), por lo tanto el queso panela es fresco, ya que coincide con las características que Almendra-Aliste & Mietton (2014) describen: un queso fresco es aquel que se cuaja a 31 - 33 °C de temperatura, el tiempo de cuajado es de 30 - 35 min., el pH al cuajar es de 6.4-6.6 y pH final de 5.15-5.25.

Cuadro 3. Algunos aspectos del proceso de hechura del queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco.

Proceso	QUESERÍA					
	Sra. Elena García	Lupita Moreno	Lorena Partida	El Tesoro	Soyatlán del Oro	Gregorio Landeros
Tiempo transcurrido de la ordeña al cuajado de la leche (h)	2	1.5-2	1.5	0.5	2	1.5
Medición de temperatura de la leche	No	No	No	No	No	No
Tiempo de cuajado (h)	3-5	1.5	1.5	1.5	2	3
Tiempo de agitación (min)	5	0	2	2	0	0
Tipo de cuajo	Líquido-enzimático	Líquido-enzimático	Líquido-enzimático	Líquido-enzimático	Líquido-enzimático	Líquido-enzimático
Utensilio para cortar la cuajada	Paleta de madera	Paleta de acero inoxidable	Cuchara de peltre			
Tiempo de estilado (min)	30	30	40	30	45	40
Tipo de molde	Chiquihuite	Canasto plástico	de Chiquihuite	Chiquihuite	Canasto plástico	de Chiquihuite

Fuente: Elaboración propia con datos de campo.

El salado es un factor que determina las cualidades sensoriales y la presencia de algunos microorganismos, dependiendo de qué porcentaje de sal se agregue; pero en las queserías muestreadas de Soyatlán, adicionan sal de grano, marca “Colima”. La denominación de productos agroalimentarios con el nombre de su lugar de producción ha servido tradicionalmente como elemento diferenciador de la calidad de la industria agroalimentaria (Millán *et al.*, 2016).

El arte de hacer queso está fuertemente ligada a los maestros queseros, al control de crecimiento y metabolismo de microorganismos (Johnson, 2014). A continuación se describe el proceso de elaboración del queso panela fresco y oreado.

Pasos de elaboración del queso panela oreado

Se generó una metodología general con base en las encuestas aplicadas a los maestros queseros. Los pasos en común entre las queserías se materializó en la siguiente metodología.

Recepción. La hora de recepción de la leche varía, pero por lo general es entre las 9 y 10 de la mañana. El tiempo que tarda en llegar la leche del lugar de ordeña a la quesería es aproximadamente 1.5 horas a 2 horas. Al momento de recibir la leche, se filtra con manta cielo, para quitar pequeñas impurezas (hojas, pelo de la vaca, pasto seco) (ver Figura 7).



Figura 7. Recepción de leche para quesería.

Atemperado. Se refiere a la temperatura adecuada (aproximadamente a 30 °C para el queso panela) en cuajado de la leche. Se determina de manera empírica: con el dedo meñique se tienta, como se muestra en la Figura 8, y se decide el tiempo de atemperado (espera). El tiempo de reposo es condicionado por la temperatura del entorno. En verano se espera de 0.5 a 3 horas para que la leche se atempere (esté a temperatura de cuajado); en invierno, luego que llega la leche se cuaja.



Figura 8. Tiempo de atemperado de la leche.

Cuajado. La temperatura que debe tener la leche para agregar el cuajo es aproximadamente de 30 °C. La cantidad de cuajo enzimático que se agrega es medida, empíricamente, utilizando la “tapaderita” de la botella del cuajo; es decir 1 mL de cuajo para 10 L de leche, aproximadamente. Posteriormente se deja reposar entre 1.5 y 5 h en invierno, mientras que en verano puede ser en 45 min (ver Figura 9).



Figura 9. Cuajado de la leche.

Cortado. En la Figura 10 se muestra el cortado de la cuajada; en este paso se manifiesta el arraigo religioso que se vive en Soyatlán. Simbólicamente, la cuajada se corta en forma de “cruz”. Después del corte, se deja reposar la cuajada cortada entre 5 y 10 minutos, para que la cuajada “amacice” es decir, que se desuere más y aumente su consistencia.



Figura 10. Corte del cuajo en forma de cruz.

Moldeado. La cuajada se coloca en moldes de otate llamado “chiquihuite” o en moldes de plástico, como se muestra en la Figura 11. Para el llenado de cada molde se toma la cuajada con un recipiente de capacidad de un litro y se procede a colocarla en cada chiquihuite. Durante esta operación se rompe la cuajada al momento de tomarlo del contenedor.



Figura 11. Llenado de moldes para panela.

Estilado. El “estilado” es el proceso de sinéresis o desuerado del queso en el molde, es decir, el autoprensado del queso panela. Llenos los moldes, se espera a que “estilen” los quesos, moviendo ocasionalmente o volteando el queso en el mismo molde, para que la cuajada no se pegue en los moldes. Lo maestros queseros saben que entre menos sea “estilado” el queso, corre el riesgo de que se “abofe”; es decir que se esponje, precisamente por el alto contenido de humedad y por la presencia de coliformes (ver Figura 12).



Figura 12. Estilado del queso panela.

Salado. El primer salado se lleva acabo cuando se terminan de moldear toda la cuajada. Se utiliza sal de Colima (sal de grano); se espolvorea homogéneamente sobre la superficie del queso (ver Figura 13). Los maestros queseros identifican con facilidad los quesos que no fueron salados correctamente, ya que la superficie presenta un ligero amarillamiento. Para el segundo salado, deben pasar aproximadamente 4 h; los productores comentan que antes de acostarse realizan el segundo salado.



Figura 13. Salado de las panelas por espolvoreo.

Oreado. Este paso consiste en sacar el queso de los moldes y colocarlos en “zarzos” (tapetes colgantes de carrizo, sujetos al techo) para orearse (ver Figura 14). El oreado es a temperatura ambiente, y este proceso es condicionado por el mercado. Si se quiere una panela ligeramente húmeda, se saca a la venta antes de los 5 días de elaborado, pero si se desea una panela con menos humedad de lo normal, y mayor sabor y aroma (fermentado), se deja más días. Sí el proceso de oreado es largo (15 d), en el transcurso de los días a las piezas se les da ligeros enjuagues y tallados (suavemente con cepillo) con agua potable, para evitar la presencia de hongos en la superficie.



Figura 14. Oreado de panelas sobre zarzos.

Empacado. El queso panela menos oreado se cubre con papel adherible (ver Figura 15) y el queso panela oreado se envuelve con papel de estraza. Posteriormente se coloca en bolsas de plástico y en la superficie se pega la etiqueta.



Figura 15. Empacado de panelas para su venta.

Comercialización. Antes de llevar el producto a los puntos de venta, se lava, cepilla y seca cuidadosamente la superficie, evitando borrar las marcas características del chiquihuite (*"chiquihuitl"* en la lengua náhuatl). En un contenedor cubierto con una manta, se estiban tres quesos como máximo para evitar que se compriman y pierdan su forma (ver Figura 16).



Figura 16. Estibado de panelas para su transporte a los puntos de venta.

El queso panela de Soyatlán, fresco y oreado, presenta características únicas; en él se reflejan la historia y cultura de su territorio de origen; sus cualidades intrínsecas (composición de la leche y microbiota propia), aparte le dan características sensoriales únicas, y las cualidades extrínsecas (el saber hacer, el clima, los pastos para el ganado, etc.) le dan tal calidad, que mercados más conscientes y en favor de un comercio justo, los aceptan. En la Figura 17 se muestra una fotografía del queso panela fresco y oreado.



Figura 17 Panela fresco (A) y panela oreado (B).

3.3.6 Elementos para un análisis FODA en el queso panela oreado

El análisis FODA consiste en realizar una evaluación de los factores fuertes y débiles que, en su conjunto, diagnostican la situación interna de una organización (sistema), así como su evaluación externa, es decir, las oportunidades y amenazas. También es una herramienta que puede considerarse sencilla y que permite obtener una perspectiva general de la situación estratégica de una organización determinada. (Ponce, 2007), también estima el efecto que una estrategia tiene para lograr un equilibrio o ajuste entre la capacidad interna de la organización y su situación externa, esto es, las oportunidades y amenazas (Thompson & Strikland, 1998).

Los quesos tradicionales, como alimentos, en especial el queso panela de Soyatlán, presentan cualidades, ventajas y desventajas; tienen cualidades sensoriales, nutritivas, funcionales. El análisis FODA del queso panela oreado, es un análisis importante para mejorar y para tener un panorama del sistema agroindustrial, leche-queso panela, ya que es una alternativa económica en Soyatlán.

Fortalezas

- La confianza entre productor y consumidor. Los compradores son de la región, por lo tanto la confianza es un factor determinante en las ventas. Además, cada vez más crece el mercado que necesita saber el origen de los productos que consume y conocer al productor.
- La estructura de microempresas familiares del SAI leche-queso panela oreada, permite la comunicación constante, por lo que se facilita la mejora en el producto, y dinámica entre actores: lechero-quesero-consumidor.
- La materia prima leche, presentó una calidad intrínseca por encima de lo establecido por la NMX-F-700-COFOCALEC-2012, por lo tanto, la calidad fisicoquímica es un factor que influye en las cualidades sensoriales del producto final.
- La alimentación de las vacas, de libre pastoreo, es determinante en la calidad de leche.
- Son pequeñas empresas sustentables; aportan a la de seguridad alimentaria, no dañan al medio ambiente, y son fuente de trabajo en la localidad.

Oportunidades

- Por ser un producto natural, casi orgánico, tiende a ganar mercado (local, regional) debido a que los productos tradicionales, cada vez son más revalorizados y buscados.
- La identidad alimentaria y el arraigo de los productores, la cultura y tradiciones de Soyatlán, el tipo de hatos rústicos de los que obtiene la

leche, los paisajes del entorno y el saber hacer, contribuyen que el queso panela sea un producto con típico.

- Debido a su “rareza” como producto fresco y oreado, es decir sin refrigeración los primeros días, se convierte en queso único en su categoría, por lo tanto un queso genuino más para el catálogo de quesos mexicanos.
- Al ser un queso de leche cruda; esto lo convierte en oportunidad, porque presenta sabores y aromas únicos.

Debilidades

- Los integrantes del sistema, no cuentan con la visión de toma de datos, para mejorar su proceso de hechura.
- La falta de cuidados en la ordeña, y el proceso de hechura contribuyen a que los quesos se abofen.
- A pesar de coexistir en un territorio y que los actores se encuentre cerca entre ellos, el individualismo entre los actores del sistema es una debilidad, ya que no mejoran como grupo, sino de manera individual.
- Las altas cuentas de bacterias mesofílicas totales en leche para quesería, son factor de debilidad, ya que se debe a las malas prácticas de ordeño.

Amenazas

- Las normas oficiales mexicanas, ante la exigencia irrestricta de inocuidad.
- La importación de leche en polvo, hace que quesos de imitación compitan en el mercado con precio (Comercio desleal).
- La ignorancia de los consumidores; por falta de información de las cualidades funcionales y sensoriales de quesos a base de leche cruda.

3.4 CONCLUSIONES

La leche que se emplea para el queso panela oreado de Soyatlán, obtuvo cuentas altas de bacterias mesofílicas aerobias; se requiere la atención del eslabón primario para reducir la carga de microorganismos. Esto requiere una atención detallada, dado que la leche que se utiliza para el queso panela no es pasteurizada. A pesar de la temperatura promedio en verano de 29 °C la leche presentó calidad aceptable para el conteo de CCS.

Un rasgo importante de la *tipicidad* del queso panela es su fermentación, que es ocasionada por su microbiota nativa, a temperatura ambiente, en zarzos, y lo más distintivo es que también se presenta como panela oreada, ligeramente seca. Por otro lado también aportan a su *tipicidad* los paisajes, el saber hacer y la raza de los hatos; hacen que el producto sea atractivo en el mercado local y regional.

El análisis fisicoquímico de la leche presentó, en grasa, proteína, SNG y ST características aceptables y estuvo por encima de lo establecido por la NMX-F-700-COFOCALEC-2012. Por lo tanto se deduce que la leche que se utiliza para elaboración del queso panela oreado, es de muy buena calidad fisicoquímica y desde luego, nutritiva.

En cuanto al proceso de hechura del queso panela oreado, se detectaron pasos que resaltan características distintivos: es el oreado, que consiste en una ligera maduración, la fermentación que debido a la microbiota presente en leche y utensilios, el tipo de sal empleado; sal de grano y el tipo de molde (canasto o *chiquihuite*). El Sistema Agroindustria leche-queso panela oreado, es una cadena corta, con una interacción estrecha entre los actores del sistema. Ellos se conocen bien y producir quesos artesanales les confiere cierto reconocimiento en su localidad.

3.5 BIBLIOGRAFÍA

- Almena-Aliste, M., and Mietton, B. (2014). Cheese classification, characterization, and categorization: a global perspective in Catherine W. Donnelly (Ed.), *Cheese and Microbes*, (73), Washington, DC, American Society for Microbiology, DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/microbiolspec.CM-0004-12>
- Aranda, Y. V., Gómez, A. C. y Ramos, E. (2014). Incorporación de dinámicas territoriales en un modelo para la selección de sellos de origen, *Revista Española de Estudios Agrosociales y Pesqueros*, 237, 13-47
- Bauman D. E., Mather I. H., Wall, R. J., y Lock A. L. (2006). Major advances associated with the biosynthesis of milk, *Journal of Dairy Science* 89, 1235-1243
- Bonfoh, B., Zinsstaga, J., Farah, Z., Simbé, C. F., Idriss O. Alfaroukh, I. O., Aebi, R., Badertscher, R., Collomb, M., Meyer, J., y Rehberger, B. (2005). Raw milk composition of Malian Zebu cows (*Bos indicus*) raised under traditional system. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18, 20-38, DOI:10.1016/j.jfca.2003.12.014
- Chen, B., Lewis, J. M., y Grandison, A. S. (2014). Effect of seasonal variation on the composition and properties of raw milk destined for processing in the UK. *Food Chemistry*, 158, 216-223, DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.02118
- Chilliard, Y., Glasser, F., Ferlay, A., Bernard, A., Rouel, J., y Doreau, M. (2007). Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and

- goat milk fat, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109, 828-855.
- Clark, K. J., Sharp, S. J., y Dungan, L. K., (2015). The agrifood system policy agenda and research domain. *Journal of Rural Studies*, 42, 112-122, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jrurstud.2015.10.004>
- Cretescu, L., Petrescu, D. M., Pet, L., Ostan, M., Pet, E., Ruset, C., y Popescu, R. (2014). Evaluation of somatic cell count from cow milk composition to response of treatment with microwave. *Journal of Biotechnology* 185S, S37-S125. DOI:10.1016/j.jbiotec.2014.07.277
- DairyCo, (2016). Market information, supply y production, En línea: <http://dairy.ahdb.org.uk/market-information/supply-production/composition-and-hygiene/uk-milk-composition/#.V-FoePDhDIU> Fecha de consulta: 20 de agosto de 2016.
- Espinosa, A. E., Arriaga, J. C. M., Boucher, F., y Espinoza, O. A. (2010). La competitividad de un Sistema Agroalimentario Localizado productor de quesos en el Altiplano Central de México. 116th EAAE Seminar "SPATIAL DYNAMICS IN AGRIFOOD SYSTEMS: IMPLICATIONS FOR SUSTAINABILITY AND CONSUMER WELFARE". Parma, Italia.
- Fonte, M. y Acampora, T. (2007). Productos típicos, estrategias de desarrollo rural y conocimiento local. Pp. 191-212
- Frelich, J., Šlachta, M., Hanuš, O., Špička, J., Samková, E., Węglar, A., y Zapletal, P. (2012). Seasonal variation in fatty acid composition of cow milk in relation to the feeding system. *Animal Science and Reports* Vol. 30, no. 3, 219-229
- Gallardo, R., Ortiz, D., Ramos, F. y Ceña, F. (2007). The emergence of territories in the processes of rural development. En C. Basili, R. Fanfani y J. L. Rastoin (Eds.), *Knowledge, sustainability and*

bioresources in the further development of the agri-food system (pp. 401-423). Bolonia: Bologna University Press

Gutiérrez, P. H y De la Vara, S. R. (2008). Análisis y diseños de experimentos, (2a ed.). México, McGraw-Hill.

Johnson, E. M. (2014). Mesophilic and thermophilic cultures used in traditional cheesemaking in Catherine W. Donnelly (Ed.), Cheese and Microbes, (73), Washington, DC, American Society for Microbiology, DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/microbiolspec.CM-0004-12>

Kliksberg, Bernardo. (1999). Capital Social y Cultura, Claves Esenciales del Desarrollo. Coordinador del Instituto Interamericano para el Desarrollo Social (INDES) del Banco Interamericano de Desarrollo. Revista de la CEPAL.

Knight, J. A., Worosz, R. M., Todd, D. C.E., Bourquin, D. L., and Harris, K. C. (2008). Listeria in raw milk soft cheese: A case study of risk governance in the United States Using the IRGC framework In Walker, K., y Renn, O. (Eds.) Global risk governace (183), Dordrecht, The Netherlands, Springer. ISBN 978-1-4020-6799-0

Mancin, M.C. (2013). Localised Agro-Food Systems and Geographical Indications in the Face of Globalisation: The Case of Queso Chontaleño, Sociologia Ruralis, 53, (2), 180-201, DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/soru.12004>

Millán, V. M.G., Amador, L. y Arjona, J. M. (2016). La denominación de origen protegida “Los Pedroches” como ruta gastronómica del jamón ibérico: análisis del perfil del visitante y evolución futura. Cuadernos de Desarrollo Rural, 13(77), 63-91. <http://dx.doi.org/10.11144/Javeriana.cdr13-77.dopp>

Mohammed, H. A., Aguilar, P. C.F, Ayala, B. A.J., Bottini, L. M.B., Solorio, S. F.J., y Ku, V. J.C. (2016). Evaluation of milk composition and fresh soft

cheese from an intensive silvopastoral system in the tropics, Dairy Science y Technology, 96, 159-172 DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s13594-015-0251-4>

Montel, M.C., Solange, B., Mallet, A., Paus, D. C., Vuitton, A. D., Desmasure, N., Berthier, F. (2014). Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. International Journal of Food Microbiology, 177, 136–154, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.019>

Nguyen-the, C., Bardin, M., Berard, A., Berge, O., Brillard, J., Broussolle, V., Carlin, F., Renault, P., Tchamitchian, M., y Morris, E. C. (2016). Agrifood systems and the microbial safety of fresh produce: Trade-offs in the wake of increased sustainability. Science of the Total Environment, 562, 751-759, DOI: <http://dx.doi.org/10.16/j.scitotenv.2016.03.241>

Ponce, T. H. (2007). La matriz FODA: alternativa de diagnóstico y determinación de estrategias de intervención en diversas organizaciones Enseñanza e Investigación en Psicología, Redalcyc, 12, 113-130

Prigent, S. A.H., & Herault, F. C. (2005). The role of trust in the perception of the quality of local food products: with particular reference to direct relationships between producer and consumer. Ecole supérieure d'agriculture d'angers, laboratoire de sciences sociales.

Sánchez, Z. P., Gallardo, C. R. y Ceña, D. F. (2016) La noción de resiliencia en el análisis de las dinámicas territoriales rurales: Una aproximación al concepto mediante un enfoque territorial. Cuadernos de Desarrollo Rural, 13(77), 93-116. <http://dx.doi.org/10.11144/Javeriana.cdr13-77.nrad>

SAS, (2014). Statistical Analysis Systems, Institute Inc., versión 9.4, Cary, NC, USA.

- Thompson, A. y Strikland, K. F.C. (1998). Dirección y administración estratégicas. Conceptos, casos y lecturas. México: McGraw-Hill Interamericana.
- Toledo, P., Andrén, A., y Björck, L. (2002). Composition of raw milk from sustainable production systems. *International Dairy Journal* 12, 75–80
- Villegas, G. A., Cervantes, E. F. (2011). La genuinidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales mexicanos, 19 (38), 146-164
- Villegas, de G. A. (2012). Tecnología quesera, (2ª ed.), México, Trillas
- Wilkinson, J. (2015). Food security and the global agrifood system: Ethical issues in historical and sociological perspective, *Global Food Security*, 7, 9-14, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gfs.2015.12.001>

IV CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y SENSORIAL DEL QUESO PANELA DE SOYATLÁN, JALISCO

PHYSICO-CHEMICAL, MICROBIOLOGICAL AND SENSORY CHARACTERIZATION OF PANELA CHEESE OF SOYATLÁN, JALISCO

Pérez-Esteban, G¹., Villegas de Gante A²

Resumen

Para la caracterización del queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco, cuatro queserías fueron seleccionadas por muestreo dirigido, en dos temporadas; lluvias y estiaje. El queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco, es un queso tradicional mexicano típico que es elaborado con leche cruda; presenta pequeños "agujeros" en su textura, tiene una humedad que va de entre 54 y 58 %, el contenido de grasa y minerales vario entre temporadas ($\alpha = 0.05$). Los análisis microbiológicos demostraron que las levaduras, *Staphylococcus aureus* y coliformes totales estuvieron por encima de los parámetros establecidos por la NOM-243-SSA1-2010. No se identificó *Salmonella spp.*, en 25 g de queso de las cuatro queserías. La caracterización sensorial del queso panela oreado, evaluado por un panel de 11 integrantes, halló que los principales atributos sensoriales en los quesos panela oreados fueron: aroma a lácteo fermentado, sabor ácido, presencia de "agujeros" en la textura del queso, apariencia húmeda y amarillamiento.

Palabras clave: análisis proximal, análisis microbiológico, evaluación sensorial.

Abstract

For the characterization of panela oreado cheese of Soyatlán, Jalisco, four cheese factories were selected by directed sampling, in two seasons (the rainy and dry seasons). The panela cheese from Soyatlán, Jalisco, is a typical Mexican traditional cheese that is made with raw milk, has small "holes" in its texture, has a moisture content of 54-58%, and the fat and mineral content varies between seasons ($\alpha = 0.05$). Microbiological analyzes showed that yeasts, *Staphylococcus aureus* and total coliforms were above the parameters established by NOM-243-SSA1-2010. *Salmonella spp.* was not identified in 25 g of cheese from the four cheese factories. The sensorial characterization of panela cheese, evaluated by a panel of eleven members, found that the main sensory attributes in the cheeses were: fermented dairy flavor, acidic flavor, presence of "holes" in cheese texture, moist appearance and yellowing.

Keywords: proximal analysis, microbiological analysis, sensory evaluation

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

¹Autor: Guillermo Pérez Esteban

²Director de Tesis: M.C. Abraham Villegas de Gante

4.1 INTRODUCCIÓN

Los quesos tradicionales mexicanos en los últimos 15 años, ya han sido objeto de estudio; la caracterización es una herramienta que ayuda a definirlos, identificarlos y diferenciarlos de los productos imitación. La caracterización incluye aspectos fisicoquímicos, microbiológicos, moleculares, sensoriales y simbólicos.

Los quesos tradicionales mexicanos elaborados (por lo regular) con leche entera de vaca, es decir, con leche “branca”, son considerados por la NOM-243-SSA1-2010 y por la COFOCALEC, como productos lácteos de riesgo hacia la salud humana, esto, por no ser pasteurizados. La leche cruda ha sido un tema controversial ante normas de salubridad y, por consecuencia, afecta a los pequeños productores. Los quesos tradicionales, genuinos son únicos; presentan cualidades intrínsecas propias; su entorno, la forma de elaborar el queso, las condiciones climáticas y la forma de maduración hacen que cada queso tradicional presente rasgos únicos, rasgos que aportan a su *tipicidad*.

La *tipicidad* se define como "un resultado social, económico y cultural, que es el efecto concreto de la interacción entre una área geográfica definida; el trabajo del hombre, que se caracteriza en esa dimensión territorial, humana, temporal y cultural" (Gonano, 1997). Este concepto alude características peculiares que resaltan en el producto ante un mercado globalizado y que se vuelve factor de calidad presente a productos lácteos análogos. Los quesos tradicionales no son sinónimo de “sucio”, ni de enfermedad; al contrario, son productos agroalimentarios únicos que ayudan a la economía local y tienen un aporte nutritivo, son inocuos, cuando son fermentados y madurados adecuadamente.

Las cualidades fisicoquímicas de las que gozan los quesos tradicionales se deben a aspectos de entorno, la microbiota, el saber hacer, y los utensilios utilizados para su producción. Existen al menos 40 variedades de quesos tradicionales identificados y caracterizados (Villegas *et al.*, 2014). Entre ellas se halla el queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco; este es un queso atípico debido a sus condiciones fisicoquímicas, sensoriales y microbiológicas.

Este queso panela es muy distinto al queso industrial, que se conoce en el mercado de masas. Presenta una humedad alta, un pH bajo, y alto contenido de proteínas. La microbiota es un aspecto clave que se hace presente en las cualidades sensoriales de este producto. Concentra una microbiota compleja que entre las cuales se encuentran, tanto microorganismo benéficos (v.g bacterias ácido lácticas, algunos hongos y levaduras) como objetables (v.g *Estafilococos sp.* y coliformes).

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1 Muestreo

Se visitó la región de la Sierra Amula, Jalisco, en específico la localidad de Soyatlán, perteneciente al municipio de Atengo, con la finalidad de delimitar la zona de estudio. Se escogió esta localidad debido a su fuerte tradición en producción de quesos tradicionales como: Queso de Quesadilla, Queso Cotija, Queso de Mesa o Adobera fresco, y Queso Panela Oreado, este último fue de nuestro interés, ya que el queso de quesadilla fue caracterizado por Sánchez (2012).

El muestreo fue dirigido, no participativo, se eligieron cuatro queserías que se denominaron A, B, C, y D. Estas queserías se seleccionaron por cumplir con los requisitos: disponibilidad, participación de los productores y transformadores, capacidad de producción, elaboración del queso panela oreado y estabilidad en el mercado regional.

La producción de queso panela es minúscula comparada con la industrial, de aquí el interés de investigación hacia este queso. El muestreo de quesos de las cuatro queserías fue en dos temporadas (lluvias y estiaje); se obtuvieron tres piezas de 500 g, de 3 días de producido, éstas fueron almacenadas a 5 °C en un termo, y se trasladaron a la Universidad Autónoma Chapingo (UACH), para sus correspondientes análisis.

4.2.2 Análisis del queso panela oreado

Análisis fisicoquímicos del queso

Se midió el pH con un potenciómetro HI98107 (Hanna Instruments, Italia), calibrado con buffer 4 y 7 (Sigma de México, México). Se obtuvieron 10 g de queso, se diluyó en 10 mL agua destilada y se realizó la lectura. La toma de muestra se realizó por triplicado. El análisis de proteína, grasa, humedad, sólidos totales, porcentaje de sal, se llevó a cabo con el analizador de lácteos FoodScan™ (Foss, México) bajo la norma ISO 21543 (2006); IDF, norma 201:2006 (2006).

4.2.3 Análisis microbiológico general

Se cortó 25 g de queso panela oreado y se suspendieron en 225 mL de agua peptonada al 0.1 % (Sigma-Aldrich, México); después se homogeneizó en una licuadora marca Oster modelo 450-20 (Sunbeam Mexicana, S.A. de C. V) durante 60 s a velocidad media. Debido a que es un queso elaborado con leche bronca, es sabido que las cuentas en microorganismo son altas, por lo que se realizó una prueba preliminar para estandarizar las diluciones a utilizar. Las diluciones utilizadas y los medios de cultivo se muestran en el Cuadro 4. Las siembras fueron realizadas, por triplicado, en cajas Petri desechables del no. 9 (Marca “La Nacional”, México), en el Laboratorio de Investigación del Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH).

Los quesos de las cuatro queserías (A, B, C, D), se analizaron a los tres días de producidos; se recolectaron en las dos temporadas mencionadas. Para BMA, CT, CF y BAL se incubaron a 37 °C en una estufa de cultivo (RossCha, México) y haciendo la lectura a las 24 – 36 h, mientras que para levaduras se incubaron a 28 °C y la lectura fue a los 5 – 7 días.

Cuadro 4. Diluciones, medios de cultivo y normas aplicadas en el muestreo del queso panela de Soyatlán, Jalisco.

Análisis	Época		Medio de cultivo	NOM aplicada
	Lluvias	Secas		
BMA	10 ⁻⁴	10 ⁻⁷	Agar nutritivo (Bioxon, México)	NOM-092-SSA1-1994
CT	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	ARBV (Bioxon, México)	NOM-113-SSA1-1994
CF (NMP)	10 ⁻¹	10 ⁻³	CVB (Bioxon, México)	NOM-112-SSA1-1994
Levaduras	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	PDA (Bioxon, México)	NOM-111-SSA1-1994
BAL	10 ⁻⁸	10 ⁻¹⁰	MRS (Difco™)	

BMA = Bacterias mesófilas aerobias

Fuente: Elaboración propia.

CT = Coliformes totales

CF = Coliformes fecales

NMP = Número más probable

BAL = Bacterias ácido lácticas

ARBV = Agar rojo bilis violeta

CVB = Caldo verde Brillante

PDA = Agar papa dextrosa

MRS = Man rogoso sharpe

Identificación presuntiva de *Salmonella spp.*

La identificación presuntiva de *Salmonella spp.* se efectuó bajo la norma oficial mexicana NOM-210-SSA1-2014. Se cortaron fragmentos de 25 g de queso (de la superficie hacia el centro del queso, el corte fue en forma de triángulo), se homogeneizó en una licuadora Oster modelo 450-20 (Sunbeam Mexicana, S.A. de C. V) con 225 mL de agua peptonada (0.1 %) como medio de pre-enriquecimiento y se dejó reposar por 24 h a 37 °C; posteriormente, los cultivos de pre-enriquecimiento, se pasaron a matraces con 30 mL de los medios de enriquecimiento: Caldo Cistina-Selenita (Difco™, México), y Caldo Tetrationato (Difco™, México), se les agregó 3 mL de cultivo pre-enriquecido y se dejaron nuevamente 24 h a 37 °C, finalmente se sembró en medio sólidos selectivos: Agar Entérico Hektoen (AEH), Xilosa Dextrosa Lisina (XLD) (Sigma, México) y Agar Sulfito de Bismuto (ASB) (Difco™, México); con la técnica vaciado en placa y se dejó reposar otras 24 h a 37 °C. Posteriormente, se seleccionaron colonias

características a *Salmonella spp.*, según las fichas técnicas de cada medio de cultivo; además, se realizaron tinciones de las colonias típicas del microorganismo en estudio, y finalmente se llevó a cabo las pruebas bioquímicas correspondientes.

Identificación presuntiva de *Staphylococcus aureus*

La identificación de *Staphylococcus aureus* se realizó bajo la norma oficial mexicana NOM-210-SSA1-2014. La preparación del medio de cultivo Agar Baird Parker (Difco™, México) fue de acuerdo a las condiciones de la ficha técnica de la empresa. Se hicieron siembras por triplicado y las siembras se efectuaron con diluciones 10^{-4} - 10^{-6} de las muestras de cada quesería. Se seleccionaron colonias típicas del microorganismo, según la ficha técnica del medio de cultivo, y se realizaron tinciones para seleccionar las colonias representativas y posibles *S. aureus*, y aquí también efectuaron las pruebas bioquímicas correspondientes.

4.2.4 Evaluación sensorial de los quesos

Análisis descriptivo cuantitativo (QDA)

Participó un grupo de 36 personas, a través de la prueba secuencial, que consiste en la aceptación o rechazo de un grupo de panelistas (Meilgaard, 2003). Los parámetros de selección para panelistas fueron: $\alpha = 0.05$, $\beta = 0.10$, porcentaje de discriminación ($Pd = 70 \%$), en donde el total de muestras para cada panelista ($np_1 = 7$), y número mínimo de muestras ($np_0 = 5$), de los cuales el número de aciertos seguidos ($n_1 = 4$) para ser aceptado y el número de errores de corrido ($n_0 = 3$) para ser descalificado. De acuerdo a los parámetros establecidos se seleccionaron 11 panelistas (tres mujeres y ocho hombres); al respecto Lawless & Heymann (2010) indican que usualmente en el QDA se seleccionan entre 10 a

12 panelistas. Estos, asistieron a 20 sesiones de entrenamiento, con la finalidad de familiarizarse con los productos; se les facilitó muestras de las cuatro queserías (A, B, C, D). Se les pidió que describieran el producto y percibieran los atributos sensoriales característicos de cada queso; esto con el objetivo de generar un vocabulario general (descriptores sensoriales) para la evaluación de los quesos.

El entrenamiento del panel se dividió en tres etapas: la primera, consistió en generar el vocabulario; esto se realizó en dos sesiones de dos horas, donde se definieron los atributos y la forma de evaluarlos. Se estandarizaron las técnicas para degustar y evaluar cada atributo (ver anexo 3). También, el panel propuso las referencias altas y bajas según su criterio.

Una vez estandarizada la forma de evaluar, se inició con la segunda etapa, que consistió en el entrenamiento, donde se monitorea el desempeño grupal e individual del panel; esta etapa se realizó en 18 sesiones. Y, por último, la tercera etapa que fue la prueba final; ésta se realizó de forma monádica, donde a cada panelista se le presentó las cuatro muestras con sus tres repeticiones respectivas previamente aleatorizadas.

4.2.5 Análisis estadístico

Análisis de datos instrumentales

Los datos instrumentales y del análisis bromatológico de las cuatro queserías se trataron con un análisis de varianza (ANOVA), con un grado de confiabilidad del 95 %; se aplicó un diseño completamente al azar (DCA), con el paquete estadístico SAS 9.4. Para la caracterización de la leche, se utilizó el paquete estadístico Statgraphics *plus*, versión 5.1.

Análisis de datos sensoriales

Para los datos sensoriales se realizó un análisis de varianza (ANOVA) considerando un diseño en bloques completos al azar con arreglo de parcelas divididas, con el paquete estadístico SAS 9.4. Los atributos se evaluaron con un análisis de componentes principales (ACP), con el paquete estadístico Statgraphics *plus* versión 5.1.

4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.3.1 Queso

Análisis fisicoquímicos del queso

En el Cuadro 5, se presentan los resultados de los análisis fisicoquímicos obtenidos del muestreo realizado en las dos temporadas: lluvias y secas. Se observa que no existe diferencia estadística significativa ($\alpha = 0.05$) entre quesería y temporada (aunque numéricamente sí), es decir no existe interacción de las queserías y la temporada del año (lluvias y secas), aunque para la variable pH si presentó interacción entre productor y temporada; existió diferencia significativa; en tiempos de lluvias el pH va desde 4.84 a 5.23, mientras que en temporada de estiaje fue entre 4.83 y 6.09, esto posiblemente por la temperatura de la temporada, ya que en lluvias, la temperatura promedio de la leche para quesería es de 28.5 ± 1.30 °C mientras que en invierno es de 22.5 ± 1.30 °C (Cuadro 2).

La quesería B presentó quesos con mayor acidez, esto coincide con el estudio de Mucchetti *et al.* (2009) quienes analizaron queso Pannerone (también elaborado con leche bronca), en el que a los dos días a 30 °C, el pH descendió a 4.9 y la lactosa fue completamente fermentada a ácido láctico, lo que explica los valores obtenidos en pH del queso panela a las 48 h de producido.

En cuanto a materia grasa Sánchez *et al.* (2012) obtuvieron resultados similares, en queso Adobera de Atengo, Jalisco (26.4 %). Se observa que en el panela la humedad estuvo entre 53.62 % y 58.15 %, este es un factor que determina las cualidades del queso panela oreado, debido a la alta humedad; en estas

condiciones los microorganismos proliferan y confieren cualidades sensoriales particulares al queso. Si se refiere a la NOM-243-SSA1-2010, este queso pertenece a la denominación quesos frescales, por su alto contenido de humedad, aunque entre temporadas (análisis total de las cuatro queserías) no existe diferencia estadística, pero numérica sí.

En el Cuadro 5 se observa que en tiempo de lluvias la humedad del queso es más alta que en tiempo de estiaje; con estas características fisicoquímicas en humedad tiene una similitud con el queso Camembert (Fox, Uniacke-Low, McSweeney & O'Mahony, 2015), porque el contenido de humedad es de 51.8 %, proteínas 19.8 % y grasa 24.3 %, además de ser también un queso de pasta suave, mientras que el queso panela fresco de Soyatlán, es suave, tajable, con pH bajo (4.9), pero con mucha similitud con el Camembert en las características fisicoquímicas de humedad, proteína y grasa.

Cuadro 5. Análisis proximal del queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco.

Componente	Queserías				Época	
	A	B	C	D	Lluvias	Secas
Grasa (%)	19.54 ^a	20.63 ^a	21.78 ^a	22.18 ^a	18.59 ^x	23.47 ^y
Humedad (%)	54.31 ^a	56.36 ^a	57.79 ^a	55.09 ^a	58.15 ^x	53.62 ^x
Proteína (%)	20.38 ^a	18.51 ^a	17.83 ^a	18.74 ^a	18.77 ^x	18.96 ^x
Sal (%)	1.47 ^a	1.56 ^a	1.35 ^a	1.42 ^a	1.47 ^x	1.43 ^x
ST (%)	45.68 ^a	43.63 ^a	42.20 ^a	44.90 ^a	41.84 ^x	46.37 ^x
Minerales (%)	5.93 ^a	4.48 ^a	3.42 ^a	4.16 ^a	4.87 ^x	4.12 ^x

Medias en filas con superíndice diferentes son estadísticamente significativos (Tukey = 0.05).
Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

El pH está correlacionado con la humedad y la temperatura, ya que a mayor humedad y a una temperatura media (30 °C), se adaptan mejor las NSLAB (bacterias ácido lácticas no iniciadoras) de la leche, lo que se refleja en el pH del queso a las 24-48 horas; existen otros quesos en los que también desciende su pH en 24 h, algunos son los siguientes: Queso Pannerone (Italia, pH 4.9)

(Mucchetti *et al.*, 2009), Queso Adobera de Atengo (Jalisco, pH 5.98) (Sánchez *et al.*, 2012), Queso Kulek (pH 5.09) (Dervisoglu & Aydemir, 2007) y Queso Örgü, (pH 5.03) (Celik & Turkoglu, 2007), estos últimos de Turquía; todos estos quesos son elaborados con leche cruda y demuestran que la microbiota nativa de la leche es fundamental para determinar características sensoriales en el producto final.

Existen factores que influyen en la variación del contenido de proteínas en las dos temporadas muestreadas; en la de estiaje, la alimentación del ganado con materia seca es alta, comparada con la época de lluvias; esto es argumentado por Fox *et al.* (2015) quienes mencionan que el contenido de proteína de la leche varía considerablemente entre las especies; otro factor posible es la técnica de elaboración del queso. Por ejemplo, el queso “Grana Trentino” es un queso italiano elaborado con leche de vaca de hatos cafés (Browns), este ganado se caracteriza por su alto contenido en proteína (Franciosi, Settanni, Cologna, Cavazza & Poznanski, 2011).

Otra de las características sobresalientes del queso panela de Soyatlán, es la humedad; con un promedio de 58.15 % en lluvias y 53.62 %, en secas denominándose así como queso fresco; datos similares obtuvieron Saxer *et al.* (2013) cuyo queso panela analizado tuvo entre 53 – 58 % de humedad.

Además del ANOVA de cada variable, también se analizó la interacción; entre el productor y la época del año en que se muestreo el queso panela para cada variable fisicoquímica. Por lo que la variable pH fue la única que presentó interacción y de acuerdo a las medias de mínimos cuadrados para el efecto de productor*temporada (Cuadro 6), por lo tanto, se dice que entre el productor y temporada (ya sea lluvias o secas) existe dependencia, entonces, se puede inferir que el pH del queso es dependiente de la temporada, ya que el pH más bajo se presentó en temporada de lluvias (verano), donde la temperatura del medio ambiente en esa zona es de aproximadamente 30 °C, lo cual, los microorganismo proliferan más rápido degradando la lactosa para producir ácido láctico, esto debido a la temperatura de la temporada, además de qué las prácticas de manufactura entre queserías difieren y como su proceso es

meramente artesanal, es decir, hechos “a mano”, se puede inferir que la interacción (productor*época) es debido a factores de personal, que aunados a la temperatura de la época, ayudan al crecimiento de microorganismos en el panela oreado y esto se refleja en el pH del producto.

Cuadro 6. Interacción de los factores quesería y época del año para la variable pH.

Temporada	A	B	C	D
Lluvias	4.84 ^{ay}	4.92 ^{abx}	5.12 ^{bcy}	5.23 ^{cy}
Secas	5.61 ^{ax}	4.83 ^{bx}	6.09 ^{cx}	6.09 ^{cx}

Medias en filas y columnas con superíndice diferentes son estadísticamente significativos (Tukey 0.05).

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

El queso panela de Soyatlán, elaborado a base de leche cruda, puede ser fresco u oreado, suave mientras no se someta mucho tiempo al oreado (según el mercado), con alto contenido en humedad (57.26 %), sin corteza, con una vida de anaquel de 2 a 3 semanas; es mantenido a temperatura ambiente (29 °C) los primeros días de elaboración (5 días), después se refrigera; la leche de mezcla es obtenida de vacas cebú, brahman, hereford, charolais, jersey y pardo suizo, alimentadas con pastos verdes, rastrojo y silo, lo que se revela en las cualidades sensoriales del queso.

Análisis microbiológico general

El análisis microbiológico realizado en el queso panela oreado, en sus respectivas temporadas: lluvias y secas, de las cuatro queserías (A, B, C, D), fue estudiado con un análisis de varianza (ANOVA), donde los factores productor y época presentaron interacción, es decir, existe dependencia entre estos dos factores; por lo que se recurrió a una análisis de medias de mínimos cuadrados

(GLM), para describir el impacto de la interacción productor*época. Las variables en las que existió interacción entre productor y época fueron: BMA, CT, levaduras y *Staphylococcus aureus*.

Para la variable BMA, se muestra en el Cuadro 7, que no existe diferencia estadística significativa entre queserías en la temporada de lluvias, mientras que en temporada de estiaje sí existió diferencia estadística ($\alpha = 0.05$), siendo el queso B con cuentas más altas de BMA y el queso A sin diferencia estadística entre temporada. Este parámetro (BMA) es un indicador general que informa el estado sanitario y microbiológico del producto.

Cuadro 7. Interacción de los factores quesería y época del año para la variable BMA (\log_{10} ufc·g⁻¹).

Temporada	A	B	C	D
Lluvias	6.08 ^{ax}	6.21 ^{ax}	5.74 ^{ax}	6.17 ^{ax}
Secas	7.22 ^{dx}	8.6 ^{ay}	8.2 ^{cy}	8.49 ^{by}

Medias en filas y columnas con superíndice diferentes son estadísticamente significativos (Tukey 0.05).

BMA = bacterias mesófilas aerobias.

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

Foulquié-Moreno, Sarantinopoulos, Tsakalidou & De Vuyst (2006) creen que la presencia de bacterias mesófilas aerobias en leche cruda (v.g bacterias ácido lácticas no iniciadoras, NSLAB, por sus siglas en inglés), pueden ser deseables, ya que, se sabe, juegan un papel importante en los quesos tradicionales, principalmente en quesos elaborados a base de leche cruda.

En cuanto a coliformes totales (CT), sí existió diferencia estadística significativa entre temporada; en época de estiaje los CT fueron estadísticamente superior a la época de lluvias; mientras que entre queserías, en época de lluvias el queso C fue el que presento menor cuenta de CT (Cuadro 8), mientras que los quesos A, B y D fueron estadísticamente superiores, lo que indica que el proceso de hechura del queso panela oreado de las queserías A, B y D posiblemente presenten malas prácticas de manufactura.

Los coliformes fecales (CF), evaluados con la técnica de NMP son un indicador, que se basa en la estadística (tres diluciones con tres repeticiones positivas), y de acuerdo a esta prueba, todas las queserías presentaron cuentas por arriba de 1100 coliformes por gramo de queso (en ambas temporadas), resultados igualmente mayores (a 1100 coliformes) demostraron Guzmán *et al.* (2016) en 18 quesos frescos y 8 quesos panela que estudiaron.

Cuadro 8. Interacción de los factores quesería y época del año para la variable CT (\log_{10} ufc·g⁻¹).

Temporada	A	B	C	D
Lluvias	8.07 ^{ax}	7.84 ^{abx}	7.27 ^{bx}	7.77 ^{abx}
Secas	7.56 ^{cy}	8.52 ^{ay}	8.58 ^{ay}	8.46 ^{aby}

Medias en filas y columnas con superíndice diferentes son estadísticamente significativos (Tukey 0.05).

CT = coliformes totales.

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

Las levaduras no presentaron diferencia estadística significativa entre las temporada de lluvias (Cuadro 9), pero si existió diferencia estadística significativa entre queserías en la época de estiaje. Los quesos A, B y D presentaron diferencia estadística significativa entre temporada ($\alpha = 0.05$), mientras que la quesería C no presentó diferencia significativa entre temporadas, es decir, fueron iguales en cuanto a ufc·g⁻¹ de levaduras en queso panela oreado.

Como referencia, en queso "Pecorino di Filiano", que también es elaborado con leche bronca, encontraron cuentas más altas de levaduras, de 10⁻⁶ y 10⁻⁹ ufc·g⁻¹ (Capece & Romano, 2009) que en el queso panela oreado.

Cuadro 9. Interacción de los factores quesería y época del año para la variable levaduras (\log_{10} ufc·g⁻¹).

Temporada	A	B	C	D
Lluvias	5.73 ^{ax}	5.52 ^{ax}	5.68 ^{ax}	5.61 ^{ax}
Secas	4.36 ^{by}	5.81 ^{ay}	5.71 ^{ax}	5.87 ^{ay}

Medias en filas y columnas con superíndice diferentes son estadísticamente significativos (Tukey 0.05).

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

Las levaduras son microorganismos que han tomado un papel protagónico en las últimas dos décadas debido a su importancia biotecnológica, ya que microorganismos como *Lactococcus spp.* y *Lactobacillus spp.*, que degradan lactosa y algunas levaduras como *Kluyveromyces lactis*, producen etanol (Fox *et al.*, 2015), pero para que estos microorganismos se desarrollen necesitan de factores fisicoquímicos, como un pH bajo (Ceugniez, Drider, Jacques & Coucheney, 2015), esto último explica la presencia de pequeños agujeros en la textura del queso panela oreado, ya que, tiene un pH de 4.9; *Kluyveromyces lactis* fue una de las levaduras aisladas e identificadas molecularmente en el queso panela de Soyatlán (ver Capítulo 3, Cuadro 13).

Independientemente de la variedad, los quesos de leche cruda tienen más diversidad y sabores “fuertes” comparados con los quesos de leche pasteurizada (Bachman *et al.*, 2011); las levaduras juegan un papel muy importante en productos lácteos fermentados, crudos, debido al gran número de características fisiológicas y bioquímicas, por su capacidad de utilizar lactosa o galactosa, por ejemplo *Debaryomyces hansenii* (Van den Tempel & Jakobsen, 2000); entonces, se puede afirmar que la microbiota nativa del queso panela oreado, más otros factores de entorno (humedad, temperatura, microorganismos), interaccionan y hacen que el queso sea inocuo debido a su naturaleza, además de que es un ecosistema evolutivo y complejo, que algunas veces es referido como “biorreactor” (Almena-Aliste & Mietton, 2014), precisamente por la microbiota primaria y la no iniciadora (NSLAB) que la contiene.

Por otro lado, las cuentas de BAL estuvieron entre 8.8 y 9.4 \log_{10} ufc·g⁻¹, lo cual significa una buena fuente de bacterias “protectoras” quizá, algunas de ellas probióticas, debido a su funcionalidad para el sistema digestivo; esto lo argumentan Ramila *et al.* (2016), quienes mencionan que las bacterias acidolácticas mejoran el balance gastrointestinal, confieren protección contra bacterias enteropatógenas, y previenen y/o curan las enfermedades intestinales. Estos efectos los producen metabolitos antimicrobianos tales como ácidos orgánicos (por ejemplo, lactato, acetato y butirato), peróxido de hidrogeno y

bacteriocinas, y la competencia entre bacterias por nutrientes o receptores de adhesión; la microbiota nativa en leche cruda es una parte importante de la microbiota de muchos quesos tradicionales (Montel *et al.*, 2014), quizá también una buena fuente de probióticos.

Las BAL son reconocidas como GRASS (generalmente reconocidos como seguros) (Tofalo & Suzzi, 2016), y consideradas “probióticos”; entiéndase por probiótico como: “microorganismo vivo que, cuando es administrado en adecuadas cantidades, confiere beneficios a la salud” (FAO/OMS, 2002); bajo esta premisa, algunas levaduras posiblemente también puedan considerarse como probióticos, aunque *v.g Saccharomyces boulardii*, es prácticamente la única levadura comercial considerada como probiótica para humanos (Binetti *et al.*, 2012). De hecho, en recientes años, el interés en el uso de levaduras como probióticos ha aumentado, esto debido a que las levaduras son capaces de sobrevivir en el tracto gastrointestinal, medio hostil, por sus enzimas, sales biliares, ácidos orgánicos, considerables variaciones del pH y temperatura (Tofalo & Suzzi, 2016).

Identificación presuntiva de *Salmonella spp.*

La identificación presuntiva de *Salmonella spp.*, en queso panela oreado resultó negativa en 25 g de muestra (en ambas temporadas), como lo indica la NOM-210-SSA1-2014; de acuerdo a las pruebas microbiológicas realizadas. El queso contiene una buena carga de bacterias acidolácticas (8.88 - 9.29 log₁₀ ufc·g⁻¹ de queso); con estas cuentas altas de BAL el pH del queso desciende a 5.03 en 24 h, quizá por eso el desarrollo de *Salmonella spp.*, se ve afectado y limitado. Van Duynhoven *et al.* (2009) mencionan que generalmente los brotes de *Salmonella* están asociados a los quesos, principalmente relacionados con el consumo de quesos suaves, tales como queso *estilo mexicano*, (sic) un queso fresco de leche cruda, mozzarella, queso cantal fresco, Brie o Camembert; mientras que Knight *et al.* (2008) dicen que el consumo de quesos suaves de leche cruda como el

panela y el camembert, feta, y brie, es riesgoso. El pH y la humedad son factores determinantes para el queso panela oreado, y se cree que la pronta fermentación (24-48 h) contribuye a la inhibición de microorganismos como *Salmonella spp.*

Algunas especies de levaduras inhiben también el crecimiento de bacterias, levaduras y hongos indeseables en los alimentos, aparentemente por la producción de compuestos antimicrobianos llamados “micocinas” o toxinas asesinas (Hatoum *et al.*, 2013). Aunque los quesos de leche cruda pueden ser riesgosos, también hay que entender su complejidad como alimentos, sus factores fisicoquímicos, y principalmente su microbiota nativa, que son factores que determinan si el alimento es inocuo o no.

En realidad, la pasteurización no garantiza la inocuidad, ya que posiblemente en una post-contaminación se pueda encontrar bacterias enteropatógenas, como Guzmán *et al.* (2016) afirman, ya que encontraron *Salmonella spp.*, en quesos frescos y queso panela de leche pasteurizada muestreados en una tienda de conveniencia y otra de un supermercado, respectivamente. Mientras que Zeinhom & Abdel-Latef (2014) muestrearon 150 quesos de leche cruda en Beni Suef, Egipto y no hallaron *Salmonella spp.*, en los quesos estudiados.

Sin embargo, la inocuidad seguirá siendo un tema debatible y una práctica impuesta por la globalización y en pro de la salud de los consumidores, pero es claro, que en quesos de leche cruda la pasteurización no es la solución para eliminar a este microorganismo (*Salmonella spp.*); es mejor analizar y evaluar las formas de evitar este microorganismo enteropatógeno a través de la “biopreservación” que es una alternativa prometedora ante la preservación química.

Cabe mencionar que la “biopreservación” se refiere al uso de la microbiota nativa de la leche, para controlar y generar compuestos antimicrobianos que generan estos microorganismos y que inhiben a los microorganismos patógenos, para extender la vida de anaquel e incrementar la inocuidad de los alimentos, por vía natural (Hatoum *et al.*, 2013); de acuerdo a lo mencionado, algunas BAL y levaduras, pueden frenar la proliferación de *Salmonella spp.*, y otros

microorganismos enteropatógenos como *E. coli* y *S. aureus*, y funjan como biopreservadores.

Identificación presuntiva de *Staphylococcus aureus*

La presencia de *Staphylococcus aureus*, por lo regular es común en quesos de leche cruda; D'Amico & Donnelly (2010) afirman que los quesos de leche no pasteurizada han sido un vehículo de enfermedades alimentarias, ya que en el amplio proceso de elaboración del queso la leche se incorporan microorganismos de este tipo.

El queso panela oreado presentó cuentas de *Staphylococcus aureus* entre 5.21 y 5.79 \log_{10} ufc·g⁻¹, pero la prueba presuntiva de la Coagulasa, resultó ser negativa; esta prueba se aplicó debido a que *S. aureus* tiene la capacidad de liberar una enterotoxina estafilocócica, que coagula el plasma de conejo; es una característica principal de este microorganismo (Zeinhom *et al.*, 2015); los resultados negativos de la coagulasa, según la NOM-210-SSA1-2014, indican que estos estafilococos probablemente sean microorganismos inoocuos como, *Staphylococcus epidermis*, habitante normal de la piel humana.

A pesar de que entre temporadas (lluvias y estiaje) no hubo diferencia significativa para *S. aureus*, dentro de las queserías si existió diferencia significativa; para los quesos A y D hubo diferencia entre temporadas mientras que en los quesos B y C no presentaron diferencia significativa, pero numérica si (Cuadro 10). Entre quesos en temporada de lluvias no existió diferencia mientras que en época de estiaje, el queso D fue estadísticamente superior a los demás quesos, es decir, presentó cuentas de *S. aureus* más altas.

En todo caso, los estafilococos hallados, también se puede hipotetizar que sean *Staphylococcus epidermis*, ya que los quesos tradicionales en su mayoría, en especial el queso panela oreado es elaborado "a mano"; es un caso opuesto al de quesos industriales en los que la mayor parte de su procesos son

mecanizados y más susceptibles a una postcontaminación por las manos del hombre. Las Casas-Lima *et al.* (2008) argumentan que *Staphylococcus aureus*, detectado en quesos frescos, posiblemente sea por las manos de los manipuladores, esto en el queso tradicional “Serra do Salitre” de Brasil, además de encontrar cuentas similares de *Staphylococcus aureus* a los del queso estudiado.

Cuadro 10. Interacción de los factores quesería y época del año para la variable *Staphylococcus aureus* (\log_{10} ufc·g⁻¹).

<i>S. aureus</i>	A	B	C	D
Lluvias	5.73 ^{ax}	5.54 ^{ax}	5.68 ^{ax}	5.61 ^{ax}
Secas	5.37 ^{by}	5.21 ^{bx}	5.52 ^{bx}	5.79 ^{ay}

Medias en filas y columnas con superíndice diferentes son estadísticamente significativos (Tukey 0.05).

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

Los resultados obtenidos de *Staphylococcus spp.*, en queso panela oreado fueron mayores a 5 \log_{10} ufc·g⁻¹ de queso; a pesar de que la literatura indica que cuentas superiores a 10⁻⁵ ufc·mL⁻¹ o g⁻¹ en muestras alimenticias (en este caso el queso), garantizan la presencia de la enterotoxina estafilococci (Bachman *et al.*, 2011; Zeinhom *et al.*, 2015), pero este no fue el caso, ya que la prueba de la coagulasa resulto negativa.

Análisis sensorial descriptivo cuantitativo

Se generaron nueve descriptores sensoriales, para la caracterización sensorial del queso panela de Soyatlán, y las definiciones de cada descriptor se muestran en el Cuadro 11. Los resultados obtenidos del ANOVA en análisis descriptivo cuantitativo (QDA), se muestran en el Cuadro 12, en donde se presentan las medias Tukey ($\alpha = 0.05$) de los atributos de cada queso evaluado de las cuatro queserías muestreadas.

Cuadro 11. Descriptores sensoriales, definiciones y referencias para evaluar queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco.

Descriptor	Definición	Referencia baja	Referencia alta
Amarillamiento	Color del queso en escala de blanco a amarillo.	Queso tipo Cotija (la V de Mu ^{MR}).	Queso tipo Manchego (Lala ^{MR}).
Apariencia humedad	Presencia de agua o sudado del queso.	Queso tipo Cotija (la V de Mu ^{MR}).	Queso tipo Panela (Lácteos Algil ^{MR}).
“Agujeros”	Presencia de pequeños “ojos” debido a la fermentación.	Queso tipo chihuahua (Lala ^{MR}).	Conchas (Bimbo ^{MR}).
Aroma a lácteo fermentado	Aroma asociado a leche fermentada.	Queso Oaxaca (Marca Chapingo ^{MR}).	Queso crema (El Torito ^{MR}).
Firmeza en cavidad bucal	Sensación al dar la primera mordida al queso con los dientes frontales.	Queso tipo manchego (Lala ^{MR}).	Queso tipo Cotija (la V de Mu ^{MR}).
Desmoronamiento	Facilidad de masticar y percibir presencia de pequeños grumos.	Queso tipo Manchego (Lala ^{MR}).	Queso tipo Cotija (la V de Mu ^{MR}).
Salado	Una de las cuatro sensaciones básicas de sabor, su presencia se debe a sales.	Requesón (Cremería Aguascalientes ^{MR}).	Queso tipo Cotija (la V de Mu ^{MR}).
Ácido	Una de las cuatro sensaciones básicas, se debe a la presencia de ácidos.	Ácido láctico 0.1 %.	Ácido láctico 2 %.
Sabor a lácteo fermentado	Sabor a producto fermentado, ejemplo yogur, ligeramente a fermentos, búlgaros, tepache.	Queso tipo Oaxaca (marca Chapingo ^{MR}).	Queso Crema.

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

Se observa que, para el atributo “amarillamiento” se formaron tres grupos, donde el queso D presentó menos color amarillo, en el grupo de en medio se encuentran quesos A y C donde estadísticamente fueron percibidos igualmente por el panel,

esto posiblemente se deba a la alimentación de forrajes verdes consumidas por las vacas lo cual incrementa el contenido de β -carotenos en la leche y queso, que son responsables del color amarillo (Nozière *et al.*, 2006).

Por otro lado, posiblemente también se deba al proceso de oreado, donde el queso se deja a temperatura ambiente durante su corta maduración y al interactuar con el aire éste ligeramente cambia su color de blanco cremoso a amarillo, pero esto solamente con el queso de la quesería B, que estadísticamente y numéricamente es superior a las demás queserías; pero lo más importante es la percepción del consumidor, ya que a menudo evalúa la calidad inicial del producto por el color y apariencia (Lawless & Heymann, 2010).

Cuadro 12. Comparación de medias de los descriptores sensoriales de quesos panelas oreados de Soyatlán, Jalisco.

Quesería	A	B	C	D
Descriptor				
Amarillamiento	2.79 ^b	6.39 ^a	2.81 ^b	1.47 ^c
Apariencia húmeda	8.13 ^b	2.70 ^c	9.12 ^{ab}	9.96 ^a
Presencia de agujeros	6.23 ^b	10.06 ^a	6.77 ^b	1.27 ^c
Aroma a lácteo fermentado	5.35 ^b	7.41 ^a	7.42 ^a	3.05 ^c
Firmeza en cavidad bucal	6.01 ^b	7.7 ^a	8.24 ^a	3.97 ^c
Desmoronamiento	5.21 ^b	7.51 ^a	7.50 ^a	3.01 ^c
Sabor salado	5.57 ^a	4.88 ^{ab}	4.48 ^b	4.15 ^b
Sabor ácido	5.96 ^a	6.72 ^a	6.64 ^a	2.80 ^b
Sabor a lácteo fermentado	7.09 ^b	7.83 ^b	8.73 ^a	4.39 ^c

Indices con la misma letra estadísticamente son iguales ($\alpha = 0.05$)

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

A pesar de que en la variable humedad entre quesos panelas oreados de las cuatro queserías no existió diferencia estadística significativa de acuerdo al análisis fisicoquímico, el panel sí percibió diferencias, lo que se muestra en el Cuadro 12. Se observa que el queso D, estadísticamente es superior en apariencia húmeda; es decir, el queso con mayor humedad, seguido de los quesos A y C, y finalmente el queso con menor apariencia húmeda fue el de la quesería B. Esta característica de mayor apariencia húmeda se debe a que es

un queso fresco, suave y con un alto contenido de humedad (Jiménez, López, Borneman & Rankin, 2016; Saxer *et al.*, 2013).

La presencia de pequeños “agujeros” en la pasta del queso panela oreado es ocasionada por levaduras y coliformes; se observa que el queso B presentó mayor porcentaje de “agujeros”; este atributo sensorial, se debe a la presencia levaduras, que juegan un papel significativo en las propiedades sensoriales y funcionales en la maduración del queso, basados en la interacción entre levaduras y cultivos iniciadores, actividades proteolíticas y lipolíticas, formación de compuestos aromáticos y otras actividades metabólicas (tales como la fermentación de la lactosa y/o galactosa) (Binetti *et al.*, 2012; Tofalo & Suzzi, 2016). Ser un producto fermentado genera CO₂, lo cual se manifiesta por la presencia de “agujeros” en el queso, aunque para algunas variedades de queso la presencia de agujeros se toma como defecto (Alichanidis & Polychroniadou, 2008).

Para el atributo aroma a lácteo fermentado, se formaron tres grupos; en el primero se encuentran los quesos B y C que estadísticamente son iguales y superiores a los quesos; el A está en el segundo grupo y C en el último grupo, con menor aroma a lácteo fermentado, por ser un producto fermentado a base de leche cruda, cuenta con su flora nativa lo cual mejora el “flavor” y aroma en el queso a través de la proteólisis y lipólisis (Cardinali *et al.*, 2016).

El atributo firmeza en boca tuvo un comportamiento similar al de aroma a lácteo fermentado, se formaron igualmente tres grupo; este comportamiento posiblemente se deba a que los quesos B y C presentaron mayor desmoronabilidad (Lawless & Heymann, 2010).

Para el atributo desmoronamiento, los quesos B y C estadísticamente son superiores a los quesos A y D; se puede decir que los quesos que presentan mayor firmeza bucal son más desmoronables y con mayor aroma a lácteo fermentado, esta correlación es debido a la manifestación sensorial y funcional de la estructura mecánica en propiedades superficiales de alimentos detectados

a través de los sentidos: vista, oído, tacto y quinesésicos (Lawless & Heymann, 2010).

La sal es un componente que potencia el sabor de los quesos y que en algunos casos sirve como inhibidor de microorganismos, en especial de levaduras, excepto *Debaryomyces hansenii*; el grupo de panelistas percibió que el queso con mayor sabor salado pertenece a las queserías A y B, seguidos de C y D; a pesar de que el ANOVA (Cuadro 5) indicó que no existe diferencia estadística significativa en el contenido de sal entre los quesos, los panelistas encontraron diferencias en el sabor salado, esto posiblemente a que los análisis instrumentales, están estandarizados y automatizados a través de un programa, que puede variar, mientras que el panel es de seres humanos quienes al sentir la sal con sus papilas gustativas emiten un resultado y éste es variado, porque depende del gusto de cada persona; además el contenido de sal es un factor importante en la textura del queso, en el sabor salado, agrio y el color amarillo (Ritvanen *et al.*, 2010); también los factores de humedad, proteína y grasa son puntos clave para las cualidades intrínsecas del queso.

Para el atributo sensorial acidez, se formaron dos grupos; el primer grupo estuvo compuesto por los quesos A, B, C y el segundo por el queso D, con menor acidez. La acidez es otro de los factores importantes en las cualidades sensoriales de los quesos; se debe a la presencia de BAL, esto por la elaboración de los quesos, la fermentación espontánea de leche cruda con bacterias ácido lácticas nativas y el subsecuente prensado y salado (Bachman *et al.*, 2011).

Finalmente, para el atributo de sabor a lácteo fermentado, el queso C arrojó mayor sensación a sabor a fermentado; por lo tanto es estadísticamente superior a los quesos A, B, D, entonces se puede decir que la quesería C, oferta quesos con mayor sabor a lácteo fermentado debido a condiciones de ambiente, proceso de hechura, aditivos mínimos e los instrumentos de elaboración.

Este queso panela fresco u oreado es totalmente opuesto a lo que se conoce como queso panela de manufactura industrial, el que abunda en el mercado: éste es ligeramente prensado para acelerar su desuerado, almacenado en cadena de

frío, húmedo, con un sabor dulce (por su pH casi neutro), de leche fresca pasteurizada (Jiménez, Flores, Cruz & García, 2009). El sabor y el aroma son características muy importantes en el queso. Los consumidores hacen su selección de quesos principalmente sobre la base de las características de sabor. Los resultados de sabor de queso típicos se deben a la lipólisis, proteólisis y a una mayor degradación de los aminoácidos por bacterias del ácido lácticas no iniciadoras (Awad, 2006).

La autenticidad de los alimentos es actualmente de gran preocupación para los investigadores, los consumidores y la industria (Aquino *et al.*, 2014) y para los sistemas agroindustriales locales que producen quesos de leche, ante la imitación de quesos sin leche, pero con el mismo nombre, es esencial la evaluación sensorial. La técnica de QDA, a pesar de ser una prueba convencional y de requerir bastante tiempo en el entrenamiento del panel y asegurar que las escalas de calificación y vocabulario sean utilizadas de manera adecuada (Navarro da Silva *et al.*, 2013) dieron resultados coherentes, para la descripción del queso panela oreado.

Los análisis de varianza para los nueve descriptores del queso panela oreado, fueron significativos ($\alpha = 0.05$), lo cual indica que el panel mostró un buen trabajo en equipo, esto se afirma con la no interacción entre panelistas*tratamientos con un 95 % de confiabilidad (Anexo 4), esto porque la F calculada de cada atributo presentaron valores bajos, entre 1.06-1.76 para sabor a lácteo fermentado y aroma a lácteo fermentado, respectivamente. En sí, el panel trabajó bien y mostró responsabilidad con su trabajo, ya que de los 11 panelistas, en el atributo del cual se eliminaron como máximo 4, fue el sabor ácido, quedando siete panelistas, mientras que con los atributos apariencia húmeda y sabor a lácteo fermentado no se eliminó ningún panelista.

En la gráfica en forma de telaraña (ver Figura 18) se observa la percepción que los panelistas tuvieron de los quesos de las diferentes queserías evaluadas. A simple vista, la quesería D es la que presenta valores menores en la mayoría de

los atributos, es decir, presentó menor sabor a lácteo fermentado, menor amarillamiento y fue el queso con mayor apariencia húmeda.

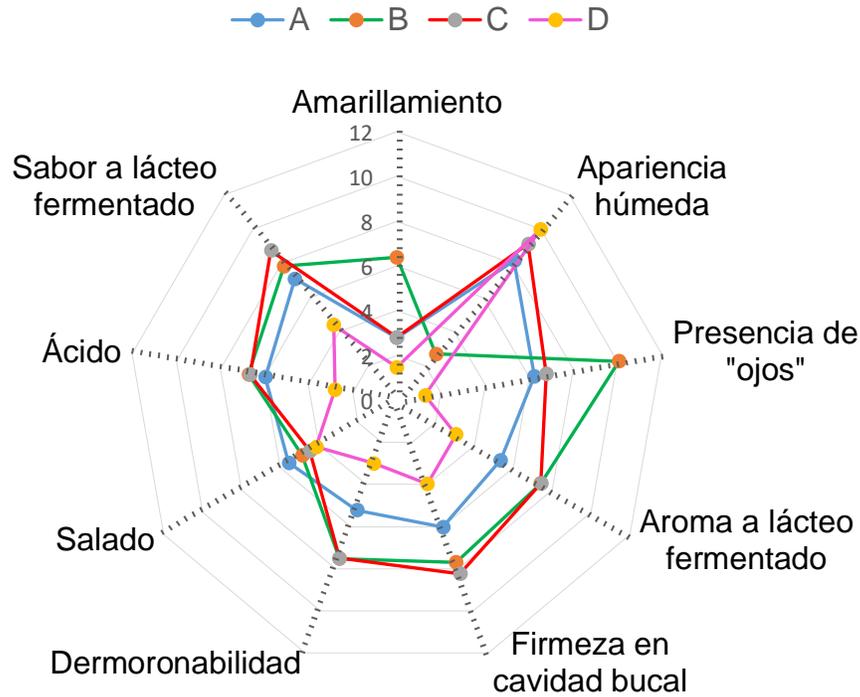


Figura 18. Perfil descriptivo de cuatro quesos panela oreados de Soyatlán, Jalisco. Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

En la Figura 19, el gráfico biplot de análisis de componentes principales (ACP) se muestra las cualidades sensoriales que mejor describen al producto. Se observa que el producto de la quesería B se caracterizó por ser más amarillo que los demás quesos y por la presencia de "agujeros", además de ser ligeramente salado.

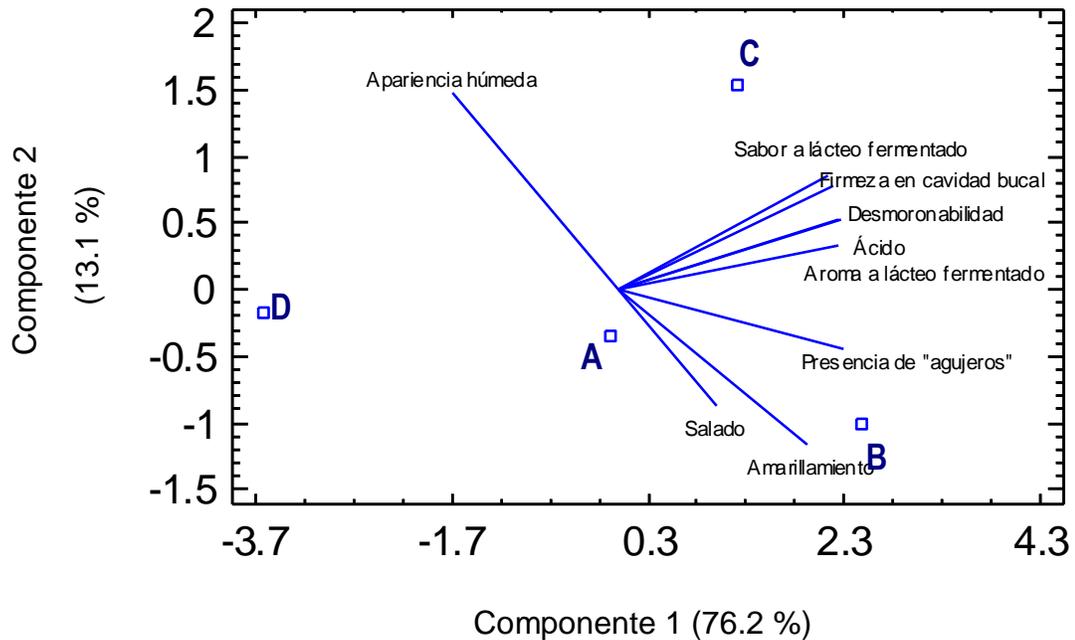


Figura 19. Análisis de componentes principales del queso panela oreado de de cuatro queserías de Soyatlán, Jalisco.
Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

En cuanto al queso A, se observa que en términos de salado es ligero, que presenta “agujeros” en su textura, pero no tantos como el de la quesería B, y es ligeramente amarillo. El queso C presentó mayor sabor a lácteo fermentado, con mayor firmeza del producto, no tan húmedo y por lo tanto más desmoronable, mientras que la quesería D su producto se caracteriza por ser más húmedo (ver Figura 19); la textura de los alimentos puede ser muy importante para el consumidor.

Sin embargo, a diferencia del color y el sabor, la textura se utiliza con frecuencia por el consumidor no como un indicador de la inocuidad alimentaria, sino como un indicador de la calidad de los alimento (Lawless & Heymann, 2010). Al respecto, la presencia de levaduras juegan un papel importante en el sabor y textura desarrollados durante la producción de leches fermentadas y en la maduración de quesos (Tofalo & Suzzi, 2016); esto depende de la composición

microbiana de la leche cruda, la técnica de elaboración, temporada del año y las condiciones de fabricación del queso (Yoon *et al.*, 2016).

El análisis de componentes principales (Cuadro 13) de los atributos sensoriales descriptivos del queso panela oreado, mostraron que el CP1 explicó el 76.2 %, el segundo componente CP2 el 13.10 %; con los dos componentes se obtuvo el 89.3 % del total de la variación de los atributos sensoriales evaluados. Los descriptores con mayor peso del CP1 son presencia de “agujeros”, ácido y aroma a lácteo fermentado (Cuadro 13), mientras que los componentes con mayor peso del CP2 son apariencia húmeda y amarillamiento. Para Lawless & Heymann (2010) la textura visual incluye rugosidad, la uniformidad, untuosidad, fibrosidad, suavidad, marchitamiento, y la humedad superficial, por lo que se puede decir que de acuerdo a las muestras tomadas de las cuatro queserías muestreadas presentan una textura visual definida y caracterizada a través del ACP.

Por lo tanto, el queso panela oreado de Soyatlán, se identifica con estos cuatro atributos sensoriales, que lo diferencian ante otros quesos panela que por lo regular son de leche pasteurizada y de pH casi neutro; sin presencia de agujeros, precisamente por ser pasteurizados y con un color casi blanco debido a la homogeneización y a los componentes artificiales que agregan a los quesos industriales.

Cuadro 13. Carga de correlación de los pesos de los dos componentes principales de los atributos sensoriales del queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco.

Atributos	CP1	CP2
Presencia de “agujeros”	0.373	-0.171
Sabor ácido	0.368	0.126
Apariencia húmeda	-0.278	0.581
Aroma a lácteo fermentado	0.369	0.203
Amarillamiento	0.313	-0.455
Desmoronabilidad	0.367	0.206
Firmeza en cavidad bucal	0.357	0.304
Sabor salado	0.164	-0.342
Sabor a lácteo fermentado	0.350	0.339

“Agujeros”= pequeños hoyos presentes en la pasta del queso.

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

4.4 CONCLUSIONES

La caracterización fisicoquímica de los cuatro quesos fue definida como aceptable, ya que el queso de acuerdo a los análisis es una buena fuente de proteínas, grasa y sólidos totales. También se caracterizó el queso panela oreado y se identificó como un producto lácteo fermentado, por ser un queso, con un pH bajo y un alto contenido de humedad (más del 58 %), de pasta suave que puede ser fresco u oreado.

El análisis microbiológico general demostró que las cuentas de bacterias mesófilas aerobias, levaduras, *Staphylococcus aureus*, *Coliformes totales* y *fecales*, estuvieron por encima de lo establecido, por la norma NOM-121-SSA1-1994. En cuanto a *Salmonella spp.*, la prueba resultó ser negativa en 25 g de queso, como lo establece la NOM-243-SSA1-2010.

El queso panela oreado de Soyatlán, presentó cargas significativas de bacterias ácido lácticas; entre 8 y 9 \log_{10} ufc·g⁻¹, lo cual es benéfico, ya que el producto se vuelve funcional, nutritivo y presuntamente inocuo.

El grupo de panelistas identificó en los cuatro quesos evaluados los principales atributos sensoriales que describe los quesos panelas oreados muestreados: aroma a lácteo fermentado, presencia de agujeros en la textura del queso, apariencia húmeda y amarillamiento.

4.5 BIBLIOGRAFÍA

- Alichanidis, E., y Polychroniadou, A. (2008). Characteristics of major traditional regional cheese varieties of East-Mediterranean countries: a review. *Dairy Science and Technology*, 88, 495-51, DOI: <http://dx.doi.org/10.1051/dst:2008023>
- Almena-Aliste, M., and Mietton, B. (2014). Cheese classification, characterization, and categorization: a global perspective in Catherine W. Donnelly (Ed.), *Cheese and Microbes*, (73), Washington, DC, American Society for Microbiology, DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/microbiolspec.CM-0004-12>
- Aquino, C. M.F.L., Silva, O. C.A., Freitas, Q. M., Felicio, L. T., Cruz, G. A., y Conte-Junio, A. C. (2014). Identifying cheese whey an adulterant in milk: Limited contribution of a sensometric approach. *Food Research International* 62, 233-237, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.03.001>
- Awad, S. (2006). Texture and flavour development in Ras cheese made from raw and pasteurised milk, *Food Chemistry*, 97, 394–400, DOI: <http://dx-doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.012>
- Bachman, H. P., Fröhlich-Wyder, M. T., Jakob, E., Roth, E., Wechsler, D., Beuvier, E., Buchin, S. (2011). *Raw Milk Cheese*. Elsevier Science.
- Binetti, A., Carrasco, M., Reinheimer, J., y Suárez, V. (2012). Yeasts from autochthonal cheese starters: technological and function properties. *Journal Applied Microbiology*, 115, 434-444.

- Capece, A. y Romano, P. (2009). "Pecorino di Filiano" cheese as a selective hábitat for the yeast species, *Debaryomyces hansenii*. International Journal of Food Microbiology, 132, 180-184
- Cardinali, F., Taccari, M., Milanović, V., Osimani, A., Polverigiani, S., Garofalo, C., Foligni, R., Mozzon, M., Zitti, S., Raffaelli, N., Clementi, F., Aquilanti, L. (2016). Yeast and mould dynamics in Caciofiore della Sibilla cheese coagulated with an aqueous extract of *Carlina acanthifolia* All. Wiley Online Library. Yeast 33, 403-414
- Celik, S., and Turkoglu, H. (2007). Ripening of traditional Örgü cheese manufactured with raw or pasteurized milk: Composition and biochemical properties. International Journal of Dairy Technology, Vol. 60, No. 4.
- Ceugniesz, A., Drider, D., Jacques, P., Coucheney, F. (2015). Yeast diversity in a traditional French cheese "Tomme d'orchies" reveals infrequent and frequent species with associated benefits, Food Microbiology 52, 177184, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2015.08.001> 0740-0020
- D'Amico, J. D. and Donnelly, W. C. (2010). Microbiological quality of raw milk used for small-scale artisan cheese production in Vermont: Effect of farm characteristics and practices. Journal of Dairy Science, 93, 134-147, DOI: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2009-2426>
- Dervisoglu, M. y Aydemir, O. (2007). Physicochemical and microbiological characteristics of Kulek cheese made from raw and heat-treated milk. World Journal Microbiology Biotechnological. 23, 451-460, DOI: 10.1007/s11274-006-9246-x
- FAO/OMS (2002). Directrices para la Evaluación de los Probióticos en los Alimentos, Informe del Grupo de Trabajo Conjunto FAO/OMS sobre Borrador de Londres, Ontario, Canadá, 30 de abril–1 de mayo de 2002, En línea: <http://www.fao.org/3/a-a0512s.pdf> Fecha de Consulta: 25 de octubre de 2016.

- Foulquié-Moreno, M. R., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E., y De Vuyst, L. (2006). The role and application of enterococci in food and health. *International Journal Food Microbiology*, 106, 1-24
- Fox, P. F., Uniacke- Lowe, T., McSweeney, P. L.H., y O'Mahony, J. A. (2015). *Dairy Chemistry and Biochemistry*, (2^a ed.), Suiza, Springer international publishing, pp. 21- 68, DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-14892-2>
- Franciosi, E., Settanni, L., Cologna, N., Cavazza, A., y Poznanski, E. (2011). Microbial analysis of raw cows' milk used for cheese-making: influence of storage treatments on microbial composition and other technological trait. *World Journal Microbiology Biotechnology*, 27,171–180, DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-010-0443-2>
- Gonano, S. (1997). "The agro-industrial district of the Castelmagno cheese", Proceedings of the 52nd EAAE Conference, Parma, Typical and Traditional Products: Rural Effect and Agro-industrial Problems
- Guzmán, H. R., Contreras, R. A., Hernández, V. R., Pérez, M. I., López, M. A., Zaidi, B. M., y Estrada, G. T. (2016). Mexican unpasteurised fresh cheese are contaminated with *Salmonella spp.*, non-157 shiga toxin producing *Escherichia coli* and potential uropathogenic *E. coli* strains: A public health risk. *International Journal of Food Microbiology*, 237, 10-16, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.018>
- Hatoum, R., Labrie, S., Fliss, I. (2013). Identification and Partial Characterization of Antilisterial Compounds Produced by Dairy Yeast. Springer Science Business Media, LLC. DOI: 10.1007/s12602-012-9109-8
- IDF (2006). The International Dairy Federation, Milk products-Guidelines for the application of near infrared spectrometry IDF 201.

International Standar ISO 21547 (2006). Milk products-Guidelines for the application of near infrared spectrometry.

Jiménez-Guzmán, J., Flores-Nájera, A., Cruz-Guerrero, A.E., y García-Garibay, M. (2009). Use of an exopolysaccharide-producing strain of *Streptococcus thermophilus* in the manufacture of Mexican Panela cheese. *LWT-Food Science and Technology*, 42, 1508-1512, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2009.04.009>

Jimenez-Maroto, L. A., Lopez-Hernandez, A., Borneman, D. L., and Rankin, S. A. (2016). A comparison of fresh, pasta filata, and aged Hispanic cheeses using sensory, chemical, functional, and microbiological assessments, *Journal Dairy Science*, 99,2680-2693, DOI: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-10112>

Knight, J. A., Worosz, R. M., Todd, D. C.E., Bourquin, D. L., and Harris, K. C. (2008). *Listeria* in raw milk soft cheese: A case study of risk governance in the United States Using the IRGC framework In Walker, K., y Renn, O. (Eds.) *Global risk governace* (183), Dordrecht, The Netherlands, Springer. ISBN 978-1-4020-6799-0

Las Casas Lima, D. C., Cerqueira, P. O.M.M., Ferreira, G. E., Faria, L. I.C., Nelson, L. D., Carmo, S. L., y Rosa, A. C. (2008). Microbiological, physical–chemical and sensory evaluation of a traditional Brazilian cheese during the ripening process. *World Journal Microbiology Biotechnology*, 24, 2389–2395, DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-008-9751-1>

Lawless, T. H. and Heymann, H. (2010). *Sensory Evaluation of Food. Principles and Practices*. (2^a ed.), New York, Springer, DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4419-6488-5>

Meilgaard, M. C., Vance, C. A., y Carr, T. (2003) *Sensory Evaluation Techniques*.

- Montel, M.C., Solange, B., Mallet, A., Paus, D. C., Vuitton, A. D., Desmasure, N. Berthier, F. (2014). Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. *International Journal of Food Microbiology*, 177, 136–154, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.019>
- Mucchetti, G., Ghiglietti, R., Locci, F., Francolino, S., Bonvini, B., Remagni, C. M., Zago, M., Iezzi, R., y Carminati, D. (2009). Technological, microbiological and chemical characteristics of Pannerone, a traditional Italian raw milk cheese. *Dairy Science and Technology*, 89, 419-436, DOI: <http://dx.doi.org/10.1051/dst2009017>.
- Navarro da Silva, S. R.C., Minim, R. P. V., Carneiro, S. J.D., Nascimento, M., Lucia, D. S.M., y Minim, L.A. (2013). Quantitative sensory description using the optimized descriptive profile: Comparison with conventional and alternative methods for evaluation of chocolate. *Food Quality and Preference*, 30,169-179, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodqual.2013.05.011>
- Nozière, P., Graulet, B., Lucas, A., Martin, B., Grolier, P., y Doreau, M. (2006). Carotenoids for ruminants: from forages to dairy products. *Animal Feed Science Technology*, 131,418-450
- Ramila, AZAT., Yan, LIU., Wei, LI., Abdurhim, KAYIR., Ding-bo, LIN., Wenwen, ZHOU., y Xiao-dong, ZHENG. (2016). Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally fermented Xinjiang cheese. *College of Biosystems Engineering and Food Science, Fuli Institute of Food Science, Zhejiang* 17(8), 597-609
- Ritvanen, T., Lilleberg, L., Tupasela, T., Suhonen, U., Eerola, S., Putkonen, T., and Peltonen, K. (2010). The characterization of the most-liked reduced-fat Havarti-type cheeses. *Journal Dairy Science*. 93, 5039–5047, DOI: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2010-3304>

- Sánchez C. A., Villegas de G. A., Santos M. A., Hernández M. A (2012). Caracterización del queso adobera de Atengo, Jalisco. Ed. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México
- SAS, (2014). Statistical Analysis Systems, Institute Inc., versión 9.4, Cary, NC, USA.
- Saxer, S., Schwenninger, M. S., Lacroix, C. (2013). Characterization of the microbiota of industrial Mexican cheeses produced without added chemical preservatives. *LWT-Food Science and Technology*, 53, 314-320, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.01.016>
- Statgraphics, (2015). Statgraphics plus versión 5.1, Warrenton, Virginia, NC, USA
- Tofalo, R. y Suzzi, G. (2016). *Yeasts*. University of Teramo, Mosciano Sant'Angelo (TE) Italy. Elsevier Science.
- Van den Tempel T y Jakobsen M (2000). The technological characteristics of *Debaryomyces hansenii* and *Yarrowia lipolytica* and their potential as starter cultures for production of Danablu. *Int Dairy J* 10: 263–270.
- Van Duynhoven, Y. T.H.P., Isken, L. D., Borgen, K., Besselse, M., Soethoudt, K., Haitzma, O., Mulder, B., Notermans, D. W., Jonge, R., Kock, P., Van Pelt, W., y Stenvers, O. (2009). A prolonged outbreak of *Salmonella Typhimurium* infection related to an uncommon vehicle: hard cheese made from raw milk. *Epidemiology Infection*, 137, 1548–1557, DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268809002337>
- Yoon Y., Lee S., Choi H. K. (2016). Microbial benefits and risks of raw milk cheese. Department of Oral Microbiology, College of Dentistry, Wonkwang University, Iksan, Chonbuk, South Korea, *Food control*, 63, 201-215
- Zeinhom, A. M.M., Abdel-Latef, K. G., and Jordan, K. (2015). The Use of Multiplex PCR to Determine the Prevalence of Enterotoxigenic

Staphylococcus aureus Isolated from Raw Milk, Feta Cheese, and Hand Swabs. Journal of Food Science, 80, Nr 12, DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.13147>

Zeinhom, A. M.M., y Abdel-Latef, K. G. (2014). Public health risk of some milk borne pathogens. Beni-suef University Journal of basic and applied sciences, 3, 209-215, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjbas.2014.10.006>

V IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE LEVADURAS PRESENTES EN QUESO PANELA DE SOYATLÁN, JALISCO

MOLECULAR IDENTIFICATION OF YEASTS PRESENT IN PANELA CHEESE OF SOYATLÁN, JALISCO

Pérez-Esteban, G¹., Villegas de Gante A²

Resumen

Se identificó la presencia de levaduras en queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco, en dos temporadas del año; Lluvias (octubre, 2015) y estiaje (febrero, 2016). Este queso tradicional mexicano al ser elaborado a base de leche cruda, cuenta con una microbiota compleja. De quesos de las cuatro queserías se aislaron 12 cepas, siete con colonias rugosas y cinco con colonias lisas. La identificación se llevó a cabo con técnicas moleculares, que facilitan el reconocimiento de microorganismos y son altamente confiables. Se identificaron las regiones; ITS1, 5.8S e ITS2 de su genoma. Las especies identificadas en el queso panela oreado fueron; *Kluyveromyces lactis*, *Yarrowia lipolytica*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida parapsilosis* y *Candida spp.*, las especies se encontraron en ambas temporadas (lluvias y secas), lo cual muestra que la microbiota es parte de los utensilios para quesería, ambiente, hatos, y que conjugados con el saber hacer se obtienen quesos únicos, con historia y con tradición, y con sabores propios que aportan a la *tipicidad* del alimento. En tanto, los análisis instrumentales, los estudios microbiológicos y la biología molecular son herramientas que ofrecen mejores resultados en el estudio de la microbiota de los quesos tradicionales.

Palabras clave: levaduras en queso panela, reacción en cadena polimerasa, ISSR, ITS.

Abstract

The presence of yeasts in panela cheese from Soyatlán, Jalisco, was identified in two seasons of the year: the rainy season (October, 2015) and the dry season (February, 2016). This traditional Mexican cheese, when made from raw milk, has a complex microbiota. Twelve strains were isolated from cheeses from four cheese factories, seven with rough colonies and five with smooth colonies. The identification was carried out with molecular techniques, which facilitate the recognition of microorganisms and are highly reliable. Regions were identified: ITS1, 5.8S and ITS2 of its genome. The species identified in the panela oreado cheese were: *Kluyveromyces lactis*, *Yarrowia lipolytica*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida parapsilosis* and *Candida spp.* The species were found in both seasons (rainy and dry), which shows that the microbiota is part of the utensils for cheese-making, the environment and the herds, and that combined with the appropriate know-how produces unique cheeses, with history and tradition, and with their own flavors that contribute to the food's typical characteristics. On the other hand, instrumental analyzes, microbiological studies and molecular biology are tools that offer better results in the study of the microbiota of traditional cheeses.

Keywords: yeasts in panela cheese, polymerase chain reaction, ISSR, ITS.

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

¹Autor: Guillermo Pérez Esteban

²Director de Tesis: M.C. Abraham Villegas de Gante

5.1 INTRODUCCION

La elaboración de quesos es tan compleja que está fuertemente ligada a la microbiología, lo que hace especialmente fascinante el estudio de los quesos tradicionales, su historia y la vasta ciencia que los rodea y los microorganismos que lo habitan (Donnelly, 2014). Los quesos mexicanos pueden clasificarse atendiendo a varios criterios, por ejemplo, su formato (peso y tamaño), tipo de pasta, consistencia, grado de maduración y otros. Por forma, predominan los cilindros más bien aplanados (*v.gr.* el queso chihuahua, el de aro, el de sal, etc.); en algunos casos el diámetro y el talo (altural) casi equivalen en magnitud (*v.gr.* el cotija) (Cervantes *et al.*, 2013).

Por tamaño y peso, la gama varía desde los pequeños oaxacas (quesillos) de unos cuantos gramos –propios para botana o golosina– hasta aquellos de varios kilogramos, que sin llegar al peso y tamaño de un gruyère, son grandes en México. Por su tipo de pasta, los quesos mexicanos pueden ser blandos (*v.gr.* panela) semiduros (*v.gr.* chihuahua y chapingo) y duros (*v.gr.* cotija, rancheros molidos, añejos) (Cervantes *et al.*, 2013).

No faltan algunos de pasta ligeramente cocida (*v.gr.* el chihuahua), de pasta lavada (*v.gr.* el tipo manchego mexicano), ni los de pasta filata (*v.gr.* el oaxaca, el trenzado y e guaje) (Cervantes *et al.*, 2013; Villegas, 2012). El queso panela es un queso fresco, de pasta blanda, autoprensado elaborado con leche pasteurizada de vaca (ocasionalmente de vaca/cabra) (Villegas, 2012). También existe un queso panela que puede ser fresco u oreado, elaborado a base de leche cruda, lo cual es un objeto de estudio de importancia ya que es un queso atípico ante el queso panela popular.

Las levaduras juegan un papel importante en la industria láctea, principalmente en la producción de quesos, donde comúnmente están presentes. El progreso en las técnicas moleculares en las últimas dos décadas ha abierto numerosas posibilidades de identificar y caracterizar levaduras a nivel genómico, así como recomendar las mejores cepas como probióticos en los alimentos (Binetti *et al.*, 2012). Las técnicas tradicionales para la identificación de levaduras son laboriosas, consumen tiempo y a veces producen resultados inciertos. Particularmente en la identificación de *Debaryomyces hansenii* se hace difícil debido a su capacidad de fermentar varias fuentes de carbono (Gallardo *et al.*, 2015).

El conocimiento de la diversidad microbiana de los productos lácteos se origina en un principio con métodos cultivo-dependientes, utilizando diferentes medios de cultivo. Esto ha mejorado de una manera muy rápida por una taxonomía cada vez más precisa a través del uso de métodos moleculares (Montel *et al.*, 2014). Los microorganismos han estado presentes desde el inicio de la vida, estos pueden ser tanto benéficos (probióticos) como tóxicos (por toxinas liberadas de algunas cepas enteropatógenas) para el ser humano. Existen numerosos microorganismos que degradan distintos tipos de sustratos y que sobreviven a condiciones relativamente adversas, v.g. alto contenido de sal, acidez alta, pH bajos, con y sin oxígeno, etcétera.

La asociación (interacción) de las levaduras con el ser humano probablemente data de hace millones de años. La evidencia es la producción de bebidas fermentadas por levaduras, principalmente con *Saccharomyces cerevisiae*, dato que se remonta hasta 7000 A.C. que es documentado en varios sitios arqueológicos presentes en China, Irán y Egipto (Tofalo & Suzzi, 2016). Por lo tanto, las levaduras son indudablemente uno de los grupos de microorganismos más importantes que son explotados para la elaboración de alimentos fermentados y que están presentes en los quesos producidos a base de leche cruda.

Los quesos de leche cruda albergan una flora microbiana compleja actuando como protectores contra patógenos lo cual los vuelve más importantes para su estudio a nivel molecular. Diversos quesos han sido estudiados a través de técnicas moleculares para identificar microorganismos presentes en él y para indicar su funcionalidad dentro del alimento.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se reconoce como una tecnología de diagnóstico molecular rápido, sensible, y como herramienta específica para el análisis de ácidos nucleicos (Rådström, Knutsson, Wolffs, Lövenklev, & Ljöfström, 2004).

La amplificación de las secuencias intermedias entre repeticiones seriadas o en *tandem* se denomina ISSR (por sus siglas en inglés Inter Sequence Simple Repeats) y es una técnica confiable de la PCR que produce marcadores moleculares dominantes. Esta metodología ha sido ampliamente utilizada desde la década de los 90 para evaluar diversidad y variabilidad genética en diferentes tipos de especies (Valadez, Samah & Luna, 2015). Los resultados que se obtienen con esta técnica son muy consistentes y apropiados para caracterizar molecularmente, a través de perfiles de DNA, las diferencias entre los genomas que se comparen.

El objetivo del presente estudio fue aislar, caracterizar e identificar molecularmente levaduras aisladas de queso panela oreado producido en Soyatlán, Jalisco.

5.2 MATERIALES Y MÉTODOS

5.2.1 Aislamiento y caracterización morfológica

Se muestrearon cuatro queserías en la localidad de Soyatlán, Jalisco. Esta localidad se ha reconocido como productora de quesos tradicionales, entre ellos el queso “panela oreado” que es elaborado a base de leche cruda el cual particularmente se considera un queso atípico, ya que presenta pH bajo (4.9-5.2) y pequeños “agujeros” en su textura.

Se realizó un análisis microbiológico de los quesos muestreados, producidos en temporada de lluvias y estiaje (secas) con edad de cuatro días. El análisis consistió en aislar y conocer la carga microbiana general; pero, particularmente identificar de manera presuntiva la presencia de las bacterias enteropatógenas *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.*

Durante el análisis microbiológico se detectó la presencia de dos tipos de levaduras, lisas y rugosas en los quesos producidos en ambas épocas, por lo que el presente estudio se centró en caracterizar e identificar molecularmente a estos últimos microorganismos.

Se aislaron 12 colonias de levaduras, cinco con morfología lisa; tres en lluvias y dos en secas; y siete con morfología rugosa; tres en lluvias y cuatro en secas (Cuadro 14); en medio PDA (papa-dextrosa-agar), con la técnica sembrado por estría, se incubaron durante 5 días a 28°C en una incubadora (RossCha, México). Para su caracterización morfológica se midió el diámetro de las colonias con un vernier digital caliper 150 Mm (Vermar, México) a los 5 días de crecimiento y posteriormente se cultivaron con fines de caracterización e identificación molecular. Las fotografías de las colonias de levaduras se tomaron con un

estereoscopio Stemi DV4 (Leica Microsystems, Alemania) y las fotografías microscópicas se tomaron con el microscopio óptico Olympus BX41 (Olympus corp, Tokio, Japón) con cámara digital Infinity (Lumera corp, ON, Canadá).

Cuadro 14. Código de cepas aisladas de queso panela oreado en dos temporadas.

Temporada	Morfología de la cepa	Código de cepa
Lluvias (octubre, 2015)	LL	A
	LR	B
	LL	C
	LR	D
	LL	E
	LR	F
Secas (febrero, 2016)	LL	G
	LR	H
	LL	I
	LR	J
	LR	K
	LR	L

LL= Levaduras lisas
 LR = Levaduras rugosas
 Fuente: Elaboración propia.

5.2.2 Análisis molecular

Extracción de DNA de cepas obtenidas del queso panela de Soyatlán, Jalisco

Las colonias aisladas y purificadas en medio PDA se inocularon en el medio líquido YPD, que contiene extracto de levadura 1 %, peptona 2 %, glucosa 2 % (Medina *et al.*, 2016), se cultivaron y se incubaron por 24 h a 140 rpm, esto para obtener la mayor cantidad de microorganismos y obtener cantidad y calidad adecuada de DNA. Para la extracción y purificación de DNA se utilizó el protocolo propuesto por Gómez (2006) y Ochoa (2011), pero se modificaron algunos pasos como: la obtención de muestra (crecimiento en medio líquido en lugar de medio sólido), el tiempo de precipitado del DNA (24 h en lugar de 2 h) y la resuspensión

del pellet de DNA (TE en lugar de agua HPLC). El proceso de extracción fue el siguiente:

1. Se tomaron 2 mL de la muestra cultivada en caldo YPD (previamente inoculada con la cepa a estudiar), se colocó en tubos Eppendorf y se centrifugaron a 8 000 rpm por 5 minutos en una microcentrífuga Mikro 20 Hettich Zentrifugen, Alemania. Se eliminó el sobrenadante.
2. Se agregaron 500 μ L del amortiguador de extracción que contenía NaCl 0.1 M, sacarosa 0.2 M, Tris HCl 0.1 M, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 0.05 M y dodecilsulfato sódico (SDS) 1 %, y se homogeneizó con ayuda de un vortex (Mixer VM-300, Gemmy Industrial Corporation, Taipei, Taiwan) por 15 s.
3. Los tubos se incubaron durante 30 min a 65 °C en un baño María.
4. Se adicionaron 160 μ L de acetato de potasio 5 M y se agitaron para que el acetato se mezclara con el amortiguador.
5. Las muestras se incubaron en refrigeración por 30 min.
6. Los tubos se centrifugaron nuevamente en la microcentrífuga por 20 min a 13,200 rpm.
7. El sobrenadante se transfirió a un tubo nuevo y se agregó un volumen de cloroformo-alcohol isomálico 24:1.
8. Nuevamente los tubos se centrifugaron por 10 min, a 13,200 rpm.
9. El sobrenadante se transfirió a tubos nuevos y se adicionó RNAsa (Promega Corporation, Madison, Wisconsin, EUA) (concentración final 200 μ g mL⁻¹) a cada uno de ellos.
10. Posteriormente los tubos se incubaron a 37 °C durante 1 h.
11. Se agregó un volumen de isopropanol a cada tubo y se mantuvieron en el congelador durante 24 h para precipitar el DNA.
12. Después los tubos se centrifugaron durante 15 min a 13,200 rpm y se decantó el sobrenadante para recuperar el pellet formado en el fondo de cada tubo.
13. Para lavar el pellet de DNA, se adicionó 1 mL de etanol 70 % y se mezclaron por inversión suavemente.

14. Los tubos se centrifugaron por 10 min a 13,200 rpm, se decantó el alcohol y se mantuvieron invertidos sobre una toalla de papel para eliminar el exceso de alcohol.
15. Finalmente, el pellet de DNA se resuspendió en 50 μL de TE (Tris HCl 10 mM y EDTA 1mM) y se mantuvo a 4 °C.

La calidad e integridad del DNA se determinó en geles de agarosa 1.2 %. La concentración y pureza del DNA se determinó con un espectrofotómetro Nanodrop ND 1000 (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, EUA), en donde la concentración se determina por la relación de la absorbancia a 260 nm y 280 nm. Una proporción de 1.8 – 2.0 es aceptada como DNA puro; proporciones menores a este valor indican la presencia de proteínas (Sambrook *et al.*, 1989). De cada muestra de DNA se hicieron diluciones para ajustar la concentración a 20 ng μL^{-1} y realizar las amplificaciones con PCR.

Caracterización genómica de levaduras aisladas del Queso Panela de Soyatlán, Jalisco, mediante ISSR-PCR

Para estimar la variabilidad genética de las levaduras de interés, se utilizó la técnica de ISSR-PCR. Para obtener diferentes perfiles de DNA y determinar la distancia entre los diferentes genomas, se utilizaron los iniciadores indicados en el Cuadro 15. Las condiciones de termociclaje utilizadas para las levaduras lisas fueron: pre-desnaturalización 94 °C 5 min, seguidos de 35 ciclos [94 °C, 45 s; 50 °C, 45 s; 72 °C, 90 s] y una extensión final de 72 °C, 7 min; mientras que para las levaduras rugosas la temperatura de alineamiento fue de 52 °C. Para definir el mejor funcionamiento del alineamiento de los iniciadores, se realizó una evaluación previa en el mismo termociclador que consistió en el alineamiento con diferentes gradientes de temperatura (desde 48 °C hasta 60 °C) para seleccionar aquella que amplificara de manera reproducible los fragmentos de interés. Finalmente, los productos de PCR se almacenaron a 4 °C hasta su uso.

Para la genotipificación de cada una de las levaduras se utilizaron 10 primers (iniciadores) indicados en el Cuadro 15; seis de los cuales fueron funcionales en ambos tipos de levaduras.

Cuadro 15. Primers ISSR utilizados para genotipificar las levaduras aisladas en queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco.

Primer	Secuencia (5' - 3')	Utilizado en tipo de colonia
UBC-811	(GA) ₈ C	LL
UBC-813	(CT) ₈ T	LL
UBC-818	(CA) ₈ G	LL
UBC-821	(GT) ₈ T	LR
UBC-825	(AC) ₈ T	LL y LR
UBC-841	(GA) ₈ YC	LL y LR
UBC-866	(CTC) ₆	LR
UBC-880	(GGAGA) ₃	LR
UBC-888	BDB(CA) ₇	LL y LR
UBC-890	VHV (GT) ₇	LL y LR
UBC-892	TAG ATC TGA TAT CTG AAT TCC C	LL
UBC-894	TGG TAG CTC TTG ATC ANN NNN	LL y LR
UBC-895	AGA GTT GGT AGC TCT TGA TC	LL y LR
UBC-900	ACT TCC CCA CAG GTT AAC ACA	LL y LR

LL = Levaduras lisas

LR = levaduras rugosas

UBC = University of British Columbia

Fuente: Elaboración propia.

Las amplificaciones de los marcadores ISSR fueron en un volumen de 25 µL que contenía 19 µL de "master mix" (5 µL de buffer 5x, 2.5 µL de MgCl₂ mMolar, 5 µL de dNTPs 1 mMolar, 0.3 µL DNA *Taq* polimerasa y 6.2 µL de agua HPLC por volumen), 2 µL del iniciador ISSR (10 pmol/µL) y 4 µL de DNA a una concentración de 20 ng/µL. Posteriormente, para evaluar la calidad de la amplificación, los productos fueron observados en geles de agarosa 1.4 % y fotodocumentados en un transiluminador Bio Rad (BioRad Laboratories, EUA). Finalmente, el análisis de los perfiles de DNA se realizó en geles de poliacrilamida 30 %. Para estimar el peso molecular de los fragmentos ISSR, se utilizó el marcador de peso de 1 kb (Thermo Scientific, México) Con los fragmentos visualizados en este tipo de geles, se construyó una matriz binaria de presencia-ausencia de bandas.

Amplificación de la región ITS de las levaduras

Se amplificó la región ITS (Internal Transcribed Spacer) del rDNA de las 12 cepas de levaduras a través de la técnica PCR utilizando los primers ITS 5HP (*forward*) 5'-GGA AGG AGA AGT CGT AAC AAG G-3' y NL-4 (*reverse*): 3'-GAC TCC TTT TTC CCG AGG TAG GTC AGA T-5' en el mismo termociclador indicado anteriormente. El programa de termociclaje fue el siguiente: para la desnaturalización inicial, 4 minutos a 95 °C, seguido de 35 ciclos [94 °C, 1 min; 57 °C, 1 min; 72 °C, 2 minutos], la amplificación concluyó con una extensión final de 72 °C, 10 min. Los productos de PCR se visualizaron en gel de agarosa 1.4 %, en buffer TAE 1x (0.04 M Tris-acetato, 0.001 M EDTA—pH 8.0), fueron revelados en bromuro de etidio ($7 \times 10^{-5} \mu\text{g}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) y fotodocumentados.

Análisis estadístico de los fragmentos ISSR

Para identificar el polimorfismo entre las diferentes levaduras, los fragmentos obtenidos se compararon en base a sus similitudes y diferencias en los patrones de bandas. Se asignó el valor 1 para la presencia de una banda y 0 para su ausencia en cada cepa y con cada iniciador (Bonizzi *et al.*, 2009). Se construyó una matriz binaria básica de datos para obtener un dendrograma de distancia entre las accesiones usando el coeficiente de Jaccard (Jaccard, 1908) con el método UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages).

Secuenciación

Para la identificación molecular de las 12 cepas de levaduras, se amplificaron y secuenciaron las regiones ITS1, 5.8S e ITS2. La información obtenida se

comparó con secuencias de especies similares descargadas del GenBank y se realizó un árbol filogenético a través del paquete estadístico Mega 6.

Una vez obtenido con PCR el fragmento de ITS, se procedió a la limpieza del producto que consistió en preparar una “master mix” de limpieza; 2 µL de SAP (Shrimp Alkaline Phosphatase), 0.1 µL de Exo1 y 6.1 µL de agua HPLC por reacción, finalmente se agregó 4 µL del fragmento ITS y se realizó la limpieza con el siguiente programa de termociclaje: 37 °C, 60 min, 72 °C/15 min y almacenado a 4 °C. Fue importante determinar el rendimiento de DNA después de la limpieza mediante espectrofotometría y realizar las diluciones adecuadas.

En un secuenciador automático 3730XL (Applied Biosystems®, USA) se realizó la secuenciación con el kit BigDye terminator v3.1 cycle sequencing en la empresa Macrogen, Inc. (<http://www.macrogen.com/>). La identificación de los microorganismos se hizo a partir de la comparación de secuencias obtenidas con secuencias en las bases de datos del GenBank, esta base de datos forma parte del NCBI (National Center for Biotechnology Information), con el acceso <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. Además, se utilizó la base datos YeastIP <http://genome.jouy.inra.fr/yeastip/authentication.php>; el análisis de las secuencias se realizó con los programas BioEdit, v. 7.2.3.1, Finch TV v. 1.4 y el árbol filogenético con secuencias con el programa Mega v. 6.

5.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.3.1 identificación de levaduras aisladas en queso panela oreado

Las levaduras aisladas del queso panela oreado obtenidas de las cuatro queserías mostraron dos tipos de colonias; colonias lisas (LL) que fueron cremosas, húmedas, brillosas y convexas; y colonias rugosas (LR) que se diferenciaron por presentar colonias amorfas, con ornamentaciones rayadas y similares a copos de nieve (ver Figuras 20 y 21). A los 5 días de crecimiento en el medio PDA, las cepas LL presentaron un diámetro entre 1.2 mm y 2.8 mm; mientras que en las cepas LR fue entre 1.9 mm y 5.3 mm. Las colonias A, C, E mostradas en la Figura 20, corresponden a las cepas aisladas en temporada de lluvias y fenotípicamente son lisas y brillantes. Las cepas G e I fueron aisladas en temporada de estiaje, nótese que también presentan el mismo aspecto que las aisladas en época de lluvias, aunque su color es un rosa más intenso.

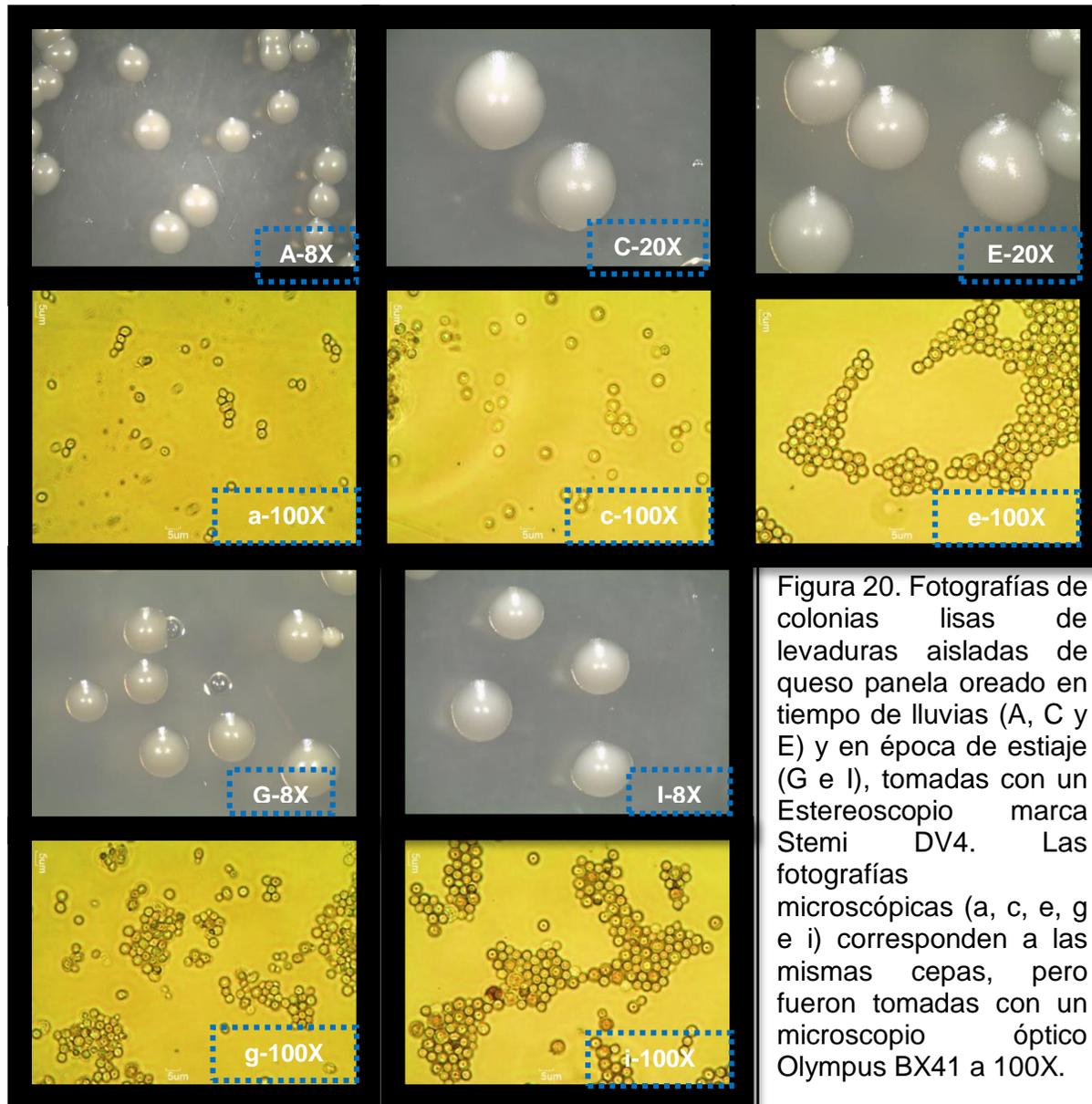


Figura 20. Fotografías de colonias lisas de levaduras aisladas de queso panela oreado en tiempo de lluvias (A, C y E) y en época de estiaje (G e I), tomadas con un Estereoscopio marca Stemi DV4. Las fotografías microscópicas (a, c, e, g e i) corresponden a las mismas cepas, pero fueron tomadas con un microscopio óptico Olympus BX41 a 100X.

En la Figura 21 se muestran las levaduras rugosas (LR) aisladas en ambas temporadas. Estas levaduras (B, D, F, H, J, K y L) presentaron morfología atípica y anamorfa; y de acuerdo a la literatura corresponden a *Candida* sp. (Heide-Marié, Lachance & Kurtzman, 2014).

La microbiota o carga microbiana de los quesos de leche cruda varía debido a los siguientes factores; la calidad sanitaria de la leche, el agua con el que se lava la corteza del queso, el tipo y contenido de sal y la higiene en su producción. Büchl & Seiler (2011) citaron que la temperatura de almacenamiento del queso, la etapa de maduración, la competencia de microorganismos y la ubicación del muestreo también son factores que influyen en las características sensoriales de este producto. Algunas levaduras contribuyen a la maduración del queso debido a su actividad proteolítica y lipolítica (Montel *et al.*, 2014).

Desde que se sabe que las levaduras influyen en las características sensoriales de quesos de leche cruda, éstas han tenido mucha importancia y son sujetas a investigación continua con la finalidad de descubrir su función en tales productos. Para quesos de leche pasteurizada quizá las levaduras sean microorganismos que deterioran su consistencia, ya que son más propensos a contaminarse.

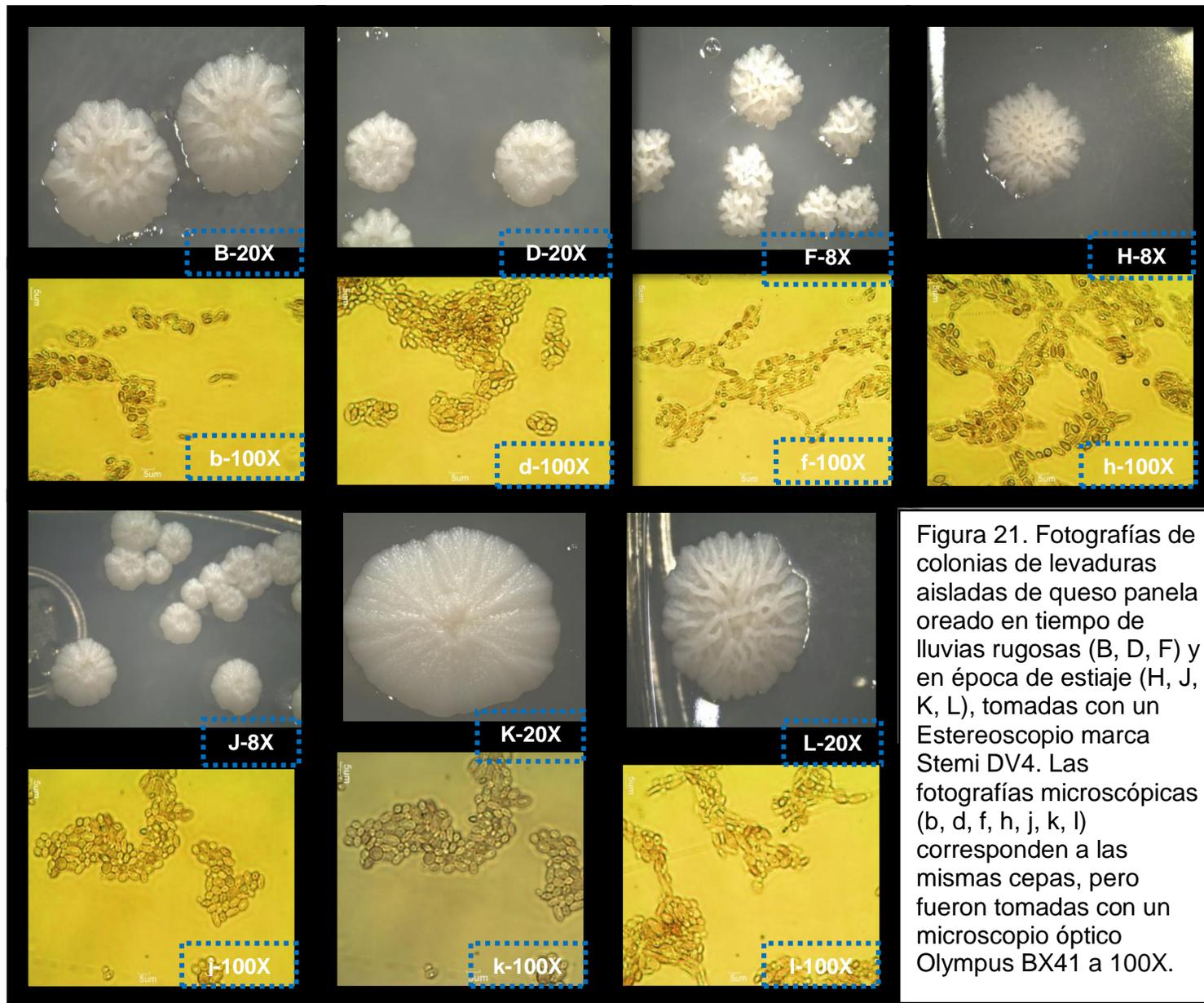


Figura 21. Fotografías de colonias de levaduras aisladas de queso panela oreado en tiempo de lluvias rugosas (B, D, F) y en época de estiaje (H, J, K, L), tomadas con un Estereoscopio marca Stemi DV4. Las fotografías microscópicas (b, d, f, h, j, k, l) corresponden a las mismas cepas, pero fueron tomadas con un microscopio óptico Olympus BX41 a 100X.

Caracterización genómica mediante ISSR de levaduras aisladas del Queso

La caracterización genotípica a través de ISSR se llevó a cabo con los iniciadores mencionados en el Cuadro 16. Las concentraciones de DNA obtenidas presentaron cantidad y calidad aceptable (Cuadro 16), en gran medida por el protocolo de extracción de DNA utilizado.

Cuadro 16. Cantidad de DNA de las cepas aisladas del queso panela oreado en las dos temporadas de lluvias y estiaje de cuatro queserías de Soyatlán, Jalisco.

Temporada	Cepa	ng/μL	Relación 260/280 nm
Lluvias (octubre, 2015)	A	1824.39	2.05
	B	2293.64	2.03
	C	980.54	2.02
	D	2344.71	2.03
	E	978.8	2.03
	F	737.18	1.97
Secas (febrero, 2016)	G	548.98	1.74
	H	2548.52	2.02
	I	837.54	2
	J	2507.17	2.02
	K	365.35	1.99
	L	188.14	1.9

Fuente: Elaboración propia.

Con los diez iniciadores utilizados en las levaduras lisas de ambas temporadas (A, C, E, G, I) se obtuvieron en total 230 fragmentos ISSR que se pueden visualizar en la Figura 22. Cabe mencionar que las amplificaciones con PCR y la separación en geles de poliacrilamida de los fragmentos amplificados, se realizó al menos tres veces cada uno a partir del mismo DNA. La obtención de los mismos perfiles de DNA demostró su reproducibilidad en nuestras condiciones. Los primers que amplificaron el mayor número de bandas de DNA en las levaduras analizadas fueron el UBC-818, UBC-825 y UBC-900 con 32, 27 y 29 fragmentos, respectivamente. En un estudio realizado por Chu-Shu *et al.* (2013), quienes utilizaron tres de los mismos primers considerados en el presente estudio

(UBC-825, UBC-900 y UBC-888) para caracterizar a *Aspergillus flavus*, también obtuvieron un alto porcentaje de polimorfismo, lo que evidencia la funcionalidad de estos iniciadores en hongos.

En el presente estudio, nueve de los iniciadores utilizados para la caracterización amplificaron algunas bandas similares, pero sobre todo la mayoría de ellas fue polimórfica. Sin embargo, el iniciador UBC-811 amplificó fragmentos básicamente monomórficos, ya que los fragmentos amplificados fueron prácticamente iguales en las cinco cepas; exceptuando la cepa A. El peso molecular de los fragmentos que se obtuvieron varió entre 250 y 1500 pb (Figura 22).

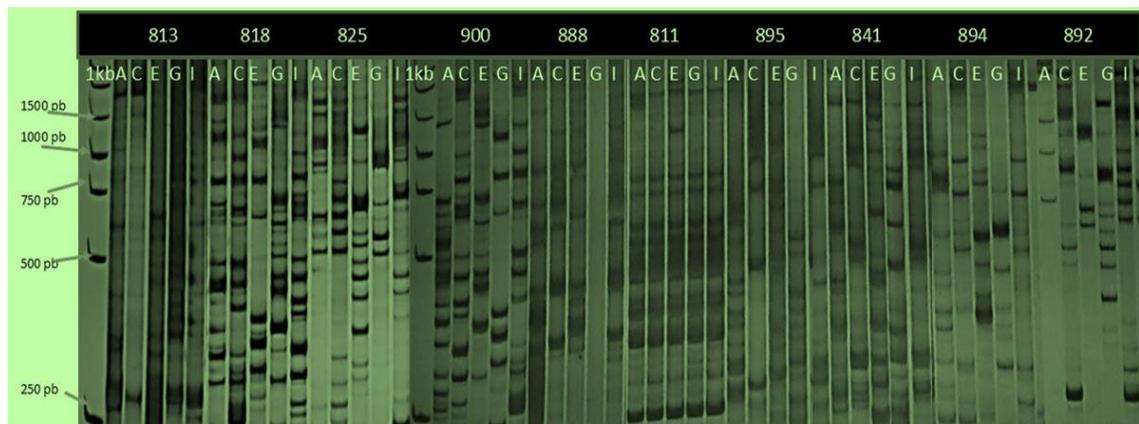


Figura 22. Perfiles de DNA obtenidos por PCR-ISSR de levaduras lisas aisladas en temporada de lluvias (A, C, E) y secas (G, I) con 10 iniciadores. El Marcador de Peso Molecular fue de 1 kb.

Con la información desplegada en el gel se construyó el dendrograma de la Figura 23. La distribución de las levaduras lisas en los clados generados indica alta variabilidad genética entre ellas. En el dendrograma, de acuerdo a la barra del coeficiente de similitud, se muestra que las LL formaron dos grupos diferentes; en el primero se encuentran las cepas A, G, C e I y en el segundo la cepa E. En el primer grupo las cepas C e I que se presentan como iguales, están a una distancia de 0.28-0.26 respecto a G y A (0.02). El grupo E, fue el más

diferente del resto de las levaduras, con una distancia a 0.23 respecto al resto de las levaduras.

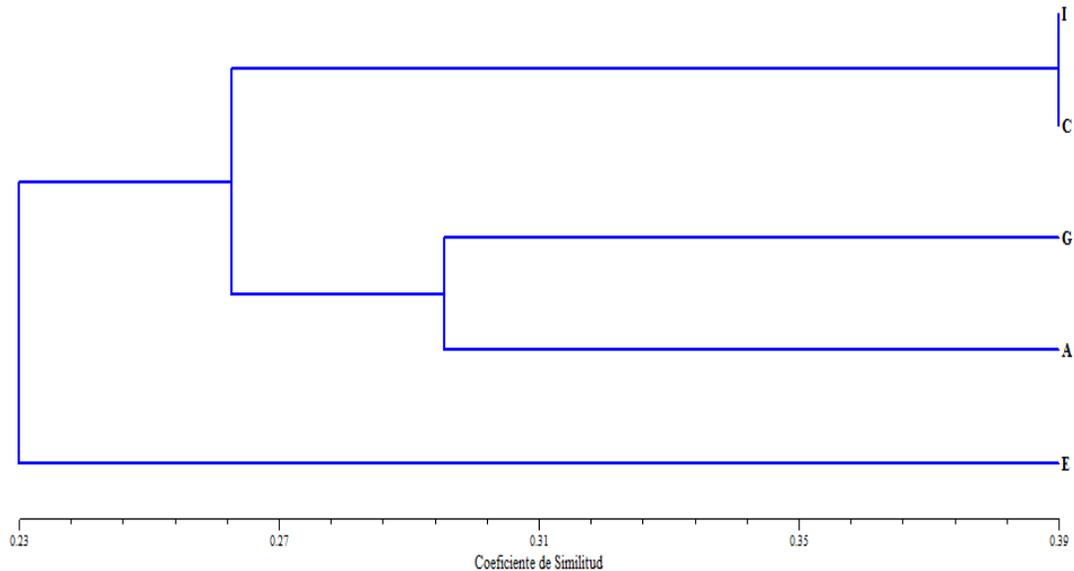


Figura 23. Dendrograma UPGMA obtenido en NTSYS con el coeficiente Jaccard a partir de los perfiles ISSR generados con 10 iniciadores en las cepas de levaduras lisas A, C, E, G, I. Se utilizaron 1000 repeticiones bootstrapping.

En cuanto a las levaduras rugosas, las 5 cepas (B, D, F, H y J) aisladas en ambas temporadas presentaron mayor similitud entre ellas respecto a las levaduras lisas (ver Figura 24).

Las LR mostraron también una gran cantidad de bandas ISSR con los primers utilizados e indicados en el Cuadro 15; se obtuvieron 226 bandas en total y el primer más informativo fue el UBC-895 con 33 bandas y el caso opuesto fue proporcionado por el primer UBC-899 con 14 bandas. El tamaño de los fragmentos varió entre 250 y 2000 pb. Cabe mencionar que Chu-Shu *et al.* (2013), quienes utilizaron el iniciador UBC-899, obtuvieron mayor polimorfismo en *aspergillus flavous*, no siendo así en el caso de nuestras levaduras.

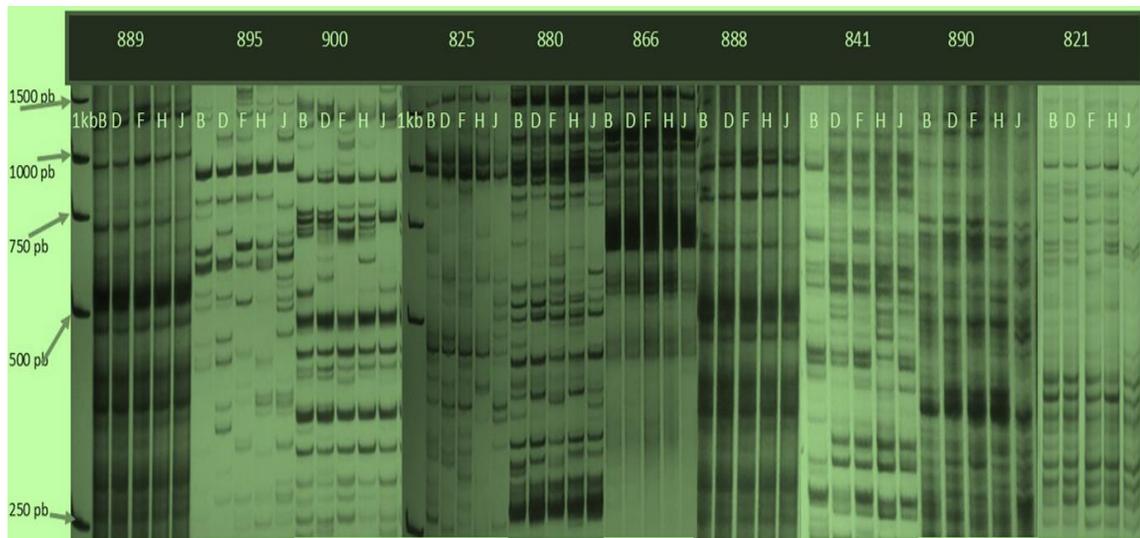


Figura 24. Perfiles de DNA obtenidos por PCR-ISSR levaduras rugosas en temporada de lluvias (B, D, F) y secas (H, J, K, L) con 10 iniciadores. El Marcador de Peso Molecular fue de 1 kb.

Con la información obtenida de los ISSR, en este segundo tipo de levaduras se construyó el dendrograma indicado en la Figura 25. Debido a que las levaduras LR presentaron perfiles de DNA más homogéneos entre sí, la distancia entre los grupos fue menor. Se formaron dos grupos; las cepas B, D, F y H, ubicadas en el primero, y la cepa J conformó el segundo grupo. Ambos grupos estuvieron separados por una distancia de 0.12.

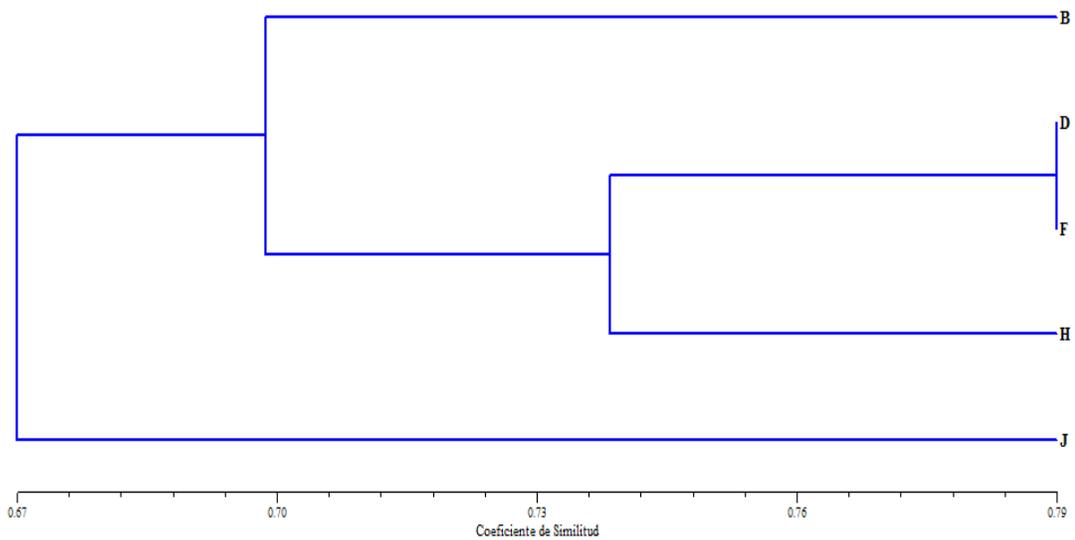


Figura 25. Dendrograma UPGMA obtenido en NTSYS con el coeficiente Jaccard a partir de los perfiles ISSR generados con 10 iniciadores en las cepas de levaduras rugosas B, D, F, H, J. Se utilizaron 1000 repeticiones bootstrapping.

Los marcadores moleculares como los ISSR son prácticos para identificar diversidad genética y para diferenciar especies. Estos marcadores son ampliamente usados en la detección de polimorfismos presentes en el DNA (Zhang, Li & Wang, 2013). Por lo tanto, esta técnica también se pudo aplicar a la quesería artesanal para diferenciar algunos de los microorganismos presentes en el queso, ya que esta técnica ofrece resultados reproducibles y relativamente económicos.

5.3.2 Amplificación de la región ITS

Las secuencias obtenidas de cada una de las regiones ITS de las diferentes levaduras se compararon con las secuencias reportadas en las bases de datos GenBank y YeastIP con ayuda del programa Blast. Cabe mencionar que la base de datos YeastIP está incorporada al Genbank, sólo que esta base es

especializada para levaduras, por lo que los resultados pueden variar entre ambas bases de información.

En el Cuadro 17 se muestra el número de accesión y microorganismo con el que se identificó cada una de las cepas en estudio. Al comparar los resultados de las bases de datos, las especies que fueron identificadas como *Candida* sp. (B, D, F, H, J, K y L) en el GenBank, fueron identificadas como *Candida* Intermedia en la base YeastIP. En el caso de *Debaryomyces hansenii* reconocida con ese nombre en el GenBank, correspondió a *Debaryomyces prosopidis* en el YeastIP.

Cuadro 17. Identidad molecular de las levaduras aisladas del queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco en dos épocas; lluvias y estiaje.

Cepa	Base de datos GenBank			Base de datos YeastIP			Numero de accesión otorgado por el GenBank
	Especie	Identidad	Accesión GenBank	Especie	identidad	Accesión GenBank	
A	<i>Candida parapsilosis</i> cepa CDC317	100 %	HE605209.1	<i>Candida parapsilosis</i> CBS 604	100 %	U45754.1	KX981192
B	<i>Candida sp.</i>	99 %	EF565862.1	<i>Candida intermedia</i> CBS 7153	100 %	AJ508588.1	KX981194
C	<i>Kluyveromyces lactis</i> cepa NRRL Y-1140	100 %	CR382124.1	<i>Kluyveromyces lactis</i> CLIB 210	99 %	AY046213.1	KX981202
D	<i>Candida sp.</i>	99 %	EF565862.1	<i>Candida intermedia</i> CBS 7153	100 %	AJ508588.1	KX981195
E	<i>Yarrowia lipolytica</i>	99 %	HF545663.1	<i>Yarrowia lipolytica</i> NRRL YB-423, CBS 6124	100 %	JQ689067.1	KX981204
F	<i>Candida sp.</i>	99 %	EF565862.1	<i>Candida intermedia</i> CBS 7153	100 %	AJ508588.1	KX981196
G	<i>Debaryomyces hansenii</i> cepa HA2277	99 %	KC111444.1	<i>Debaryomyces prosopidis</i> JCM 9913, CBS 8450	100 %	NR_077067.1	KX981201
H	<i>Candida sp.</i>	99 %	EF565862.1	<i>Candida intermedia</i> CBS 7153	100 %	AJ508588.1	KX981197
I	<i>Kluyveromyces lactis</i> cepa NRRL Y-1140	99 %	CR382124.1	<i>Kluyveromyces lactis</i> CLIB 210	99 %	AY046213.1	KX981203
J	<i>Candida sp.</i>	99 %	EF565862.1	<i>Candida intermedia</i> CBS 7153	100 %	AJ508588.1	KX981198
K	<i>Candida sp.</i>	99 %	EF565862.1	<i>Candida intermedia</i> CBS 7153	100 %	AJ508588.1	KX981199
L	<i>Candida sp.</i>	99 %	EF565862.1	<i>Candida intermedia</i> CBS 7153	100 %	AJ508588.1	KX981200

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

De acuerdo a la región ITS secuenciada, la colonia E corresponde a *Yarrowia lipolytica*; éste es un organismo dimórfico capaz de crecer en dos distintas formas morfológicas; usualmente como células ovaladas u ovals, o como hifas filamentosas. Se cree que este dimorfismo es debido a las condiciones de estrés (Braga, Mesquita, Amaral, Ferreira & Belo, 2015).

Las cepas que presentaron morfología rugosa (B, D, F, H, J, K, L) se identificaron como *Candida sp.*, y por lo regular se asocia a las malas prácticas de manufactura, ya que este microorganismo se puede encontrar en uñas, polvo, excremento y pelo de los hatos. Este tipo de levaduras *Candida sp.*, es un género extremadamente heterogéneo que comprende amplia diversidad de ascomicetos y basidiomicetos porque su estado teleomórfico (tipo de reproducción sexual) no ha sido demostrado (Johnson, 2013).

Kluyveromyces lactis (C e I) es una levadura común en productos lácteos debido a su capacidad de fermentar lactosa y generar CO₂; por lo que se puede inferir que la presencia de pequeños “agujeros” en la textura del queso panela oreado son producidos por estos microorganismos. A pesar de ser una levadura común en productos lácteos frescos y fermentados, es una levadura rara, junto con *K. marxianus*, debido a su capacidad de degradar lactosa. Según Naumova *et al.* (2012) esta característica es rara, ya que solamente el 1 % de más de 700 especies conocidas la comparten. *K. lactis* fue aislada en las dos temporadas que se realizó el estudio, lo cual indica que la zona de origen del queso, los utensilios empleados, el tipo de leche y la forma de ordeño están correlacionados con la microbiota nativa.

Debaryomyces hansenii corresponde a la cepa G. Esta especie fue aislada de salmuera salada en Austria (referencia citada en GenBank: FRG86594.1). Originalmente se aisló de ambientes salinos como agua de mar y salmueras concentradas (Kumar, Randhawa, Ganesan, Raghava & Monda, 2012), por lo que se hipotetiza, que se encuentra en el queso panela oreado debido al tipo de sal que utilizan para salar este queso: sal de Colima, un tipo de sal de grano.

Tofalo & Suzzi (2016) mencionan que de las especies dominantes y más importantes en leches fermentadas, además de *Saccharomyces cerevisiae*, se encuentran *Debaryomyces hansenii*, *Yarrowia lipolytica*, *K. marxianus* y *Galactomyces candidus*. Esto coincide con lo citado por Buch & Seiler (2011), que indican que las especies que frecuentemente se encuentran en productos lácteos son: *Candida intermedia*, *C. parapsilosis*, *Cryptococcus curvatus*, *Debaryomyces hansenii*, *Galactomyces geotrichum*, *Issatchenkia orientalis*, *Kluyveromyces marxianus*, *K. lactis*, *Pichia farinosa*, *P. fermentans*, *P. membranifaciens*, *P. anómala*, *Trichosporom beigelii* y *Yarrowia lipolytica*, debido a que las levaduras tienen la capacidad de crecer en medios ácidos y pH bajo (3.0–5.5).

Las levaduras representan gran importancia biotecnológica debido a su capacidad antagónica hacia otros microorganismos (Hatoum *et al.*, 2013), ya que fungen como protectores de quesos de leche cruda. Se cree, que sea debido a la competencia de nutrientes, cambios de pH en el medio, producción de ácidos orgánicos (por BAL), concentraciones altas de etanol, y relacionados a compuestos antimicrobianos como toxinas asesinas (Hatounm *et al.*, 2013). Esto se debe también a que las BAL segregan varios metabolitos, tales como ácidos orgánicos, ácidos grasos, peróxido de hidrógeno y diacetilo, así como bacteriocinas que inhiben el crecimiento de patógenos (Hatoum *et al.*, 2013).

Las levaduras y las BAL juegan un papel de sinergia, ya que las primeras degradan el lactato que desechan las BAL y así crean condiciones favorables para su reproducción. En el queso, el catabolismo del lactato por algunas especies como *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces lactis* y *Kluyveromyces marxianus*, inducen un incremento del pH en la superficie del queso, teniendo un rol clave durante su maduración (Tofalo & Suzzi, 2016); por lo tanto, influyen en sus características sensoriales.

Entre las cepas aisladas, se encuentran *Debaryomyces hansenii*, que es una levadura que comúnmente se encuentra en quesos (Capece & Romano, 2009), y ha sido reportado que juega un papel clave durante la maduración de este

producto por la capacidad de crecimiento a altas concentraciones de sal y bajo pH (Cardinali *et al.*, 2016). Está involucrada en la fermentación y en la maduración de la superficie de algunos quesos como; Limburger, Tilsitter, Port Salut, Trappist, Brick y Danish Danbo (Capece & Romano, 2009).

Yarrowia lipolytica es una levadura que primero produce cadenas cortas de cetonas, sulfuros y furanos, asociados con los aromas del queso (Price *et al.*, 2014). También está asociada a quesos suaves como el camembert (Chen *et al.*, 2012); por lo tanto, el queso panela de Soyatlán, Jalisco, al ser un queso fresco, suave, con humedad alta, elaborados de leche bronca, es decir, sin alterar su composición fisicoquímica, con un 3.55- 3.98 % de materia grasa, se convierte en un buen medio para que *Yarrowia lipolytica* habite en él.

Se realizó un árbol filogenético con todas las secuencias de DNA y se compararon con otras secuencias de especies similares descargadas del GenBank que fueron *Candida parapsilosis* (accesión: HF545671.1), *Candida parapsilosis* (accesión: HE799670.1), *Candida sp.* 1A (accesión: EF565862.1), *Debaryomyces fabryi* (accesión: HE681098.1), *Debaryomyces hansenii* (accesión: FR686594.1), *Kluyveromyces marxianus* (accesión: KM921926.1), *Yarrowia lipolytica* (accesión: HF545658.1), *Yarrowia lipolytica* (accesión: HE660060.1), y *Kluyveromyces lactis* (accesión: HE799667.1).

Basándose en las comparaciones de secuencias de DNA, las cepas aisladas formaron tres grupos. El análisis de máxima verisimilitud de las secuencias ITS colocó a las cepas en diferentes ramas (ver Figura 26). La barra de la escala corresponde a 50 sustituciones de nucleótidos por 1000 nucleótidos.

En el primer grupo se encuentra: La cepa A que es *candida parapsilosis* que se identificó en un 100 % con las cepas ZG7-Y188 y ZG7-Y187, aislados también de queso blanco encurtido y queso fresco a base de leche cruda en las regiones montañosas de Serbia y las regiones de tierras bajas de Croacia (Golić *et al.*, 2013).

La cepa G que se identificó como *Debaryomyces hansenii*, tiene una identidad del 99 % con la cepa *Debaryomyces fabryi* HA767 aislada de un taller de quesos en Austria (Lopandic, Rentsendorj, Prillinger & Sterflinger, 2013) y con *D. hansenii* cepa HA2781 aislada de salmuera salada en Austria (GenBank: FR686594.1). Otras fuentes de donde se ha aislado *D. hansenii* son: queso, vino, vino blanco, cuajo, aire, frijoles saldos, salchichas, suelo, uñas, piel, uvas (Nguyen, Gaillardin & Neuvéglise, 2009). El género *Debaryomyces spp.*, es frecuentemente encontrado en alimentos salados, dulces, fermentados con alta osmolaridad así como en ambientes marinos (Johnson, 2013) puede tolerar niveles de salinidad hasta 24 %, mientras que el crecimiento de *S. cerevisiae* se inhibe cuando la salinidad alcanza el 10 % (Lépingle *et al.*, 2000).

Estudios recientes realizados por Ochangco *et al.* (2016) proponen a *D. hansenii* como probiótico debido a sus capacidades antiinflamatorias y la facilidad de adherirse al modelo epitelial gastrointestinal *in vitro*, estas cepas como probióticos fueron aisladas de productos lácteos en Dinamarca.

Las cepas C e I presentan una similitud del 96 % con *K. lactis* NRRL Y-1140 y con *K. marxianus* cepa ZT-Kma.9; *K. marxianus* fue aislada en un taller de productos lácteos en Jorramabad, Irán (GenBank: KM921926.1). Naumova *et al.* (2012) descubrieron que especies estrechamente relacionadas como *K. lactis* y *K. marxianus* en las regiones D1/D2 difieren sólo en un nucleótido, y al ser comparada con la cepa *K. lactis* cepa ZIM 2441 aislado ZG2-Y154, tienen una identidad del 99 %; por lo que pudieran tratarse de la misma especie.

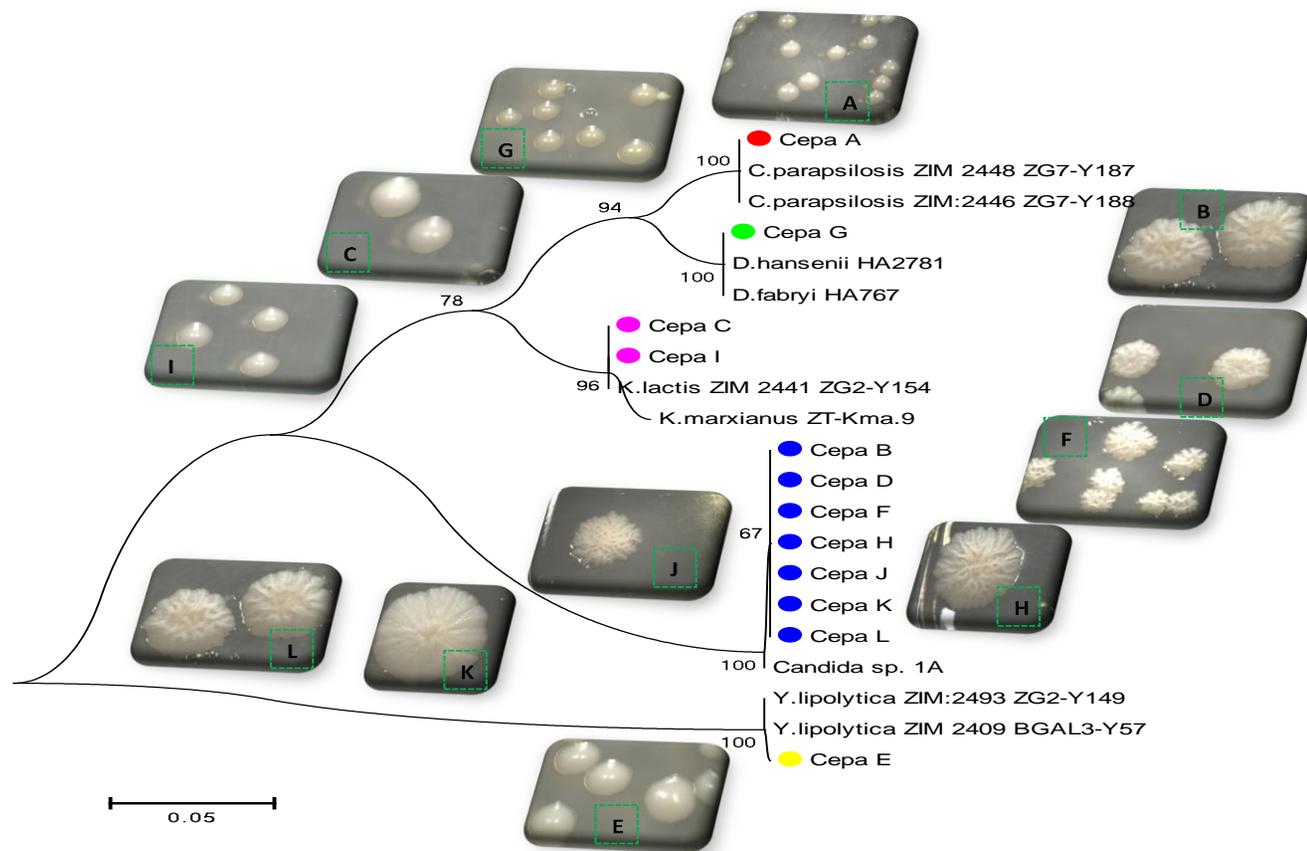


Figura 26. Árbol filogenético realizado con MEGA 6 obtenido a partir de secuencias de las cepas aisladas del queso panela oreado (levaduras Lisas ●●●●● y levaduras rugosas ●) y comparadas con las secuencias de referencia del GenBank. Con 1000 repeticiones de bootstrap a través del método máxima verisimilitud.

En el segundo grupo se aglomeraron las cepas B, D, F, H, J, K y L en un 67 % entre ellas y en un 97 % con *Candida sp.*, 1A. Esta misma especie fue aislada del aire en una granja de cerdos en Italia (Davolos & Pietrangeli, 2007).

En el tercer grupo se encuentra la cepa E identificada como *Yarrowia lipolytica* y al ser comparada con otras especies similares como *Y. lipolytica* colección de cultivo ZIM2493, aislado ZG2 Y-149 y *Y. lipolytica* ZIM 2409, aislado BGAL3-Y5 provenientes de quesos frescos (Golić *et al.*, 2013), presentó una similitud entre el grupo del 100 %, pero a pesar de pertenecer a las levaduras lisas, presentó un comportamiento totalmente diferente.

Esto se debe a que *Y. lipolytica* es una levaduras que hidroliza grasas mientras que *Kluyveromyces lactis* sintetiza lactosa (glucosa y galactosa). Ledesma & Nicaud (2016) reportaron que *Y. lipolytica* es una levadura ascomiceto, dimórfico, no patogénico, a menudo encontrado en entorno con sustratos hidrofóbicos tales como productos lácteos y residuos aceitosos, además sus características fisiológicas únicas como el crecimiento en los sustratos hidrófobos hace que sea diferente a las demás especies aisladas del queso panela oreado.

De acuerdo a los resultados obtenidos las levaduras pueden llegar a través del ambiente, pero debido a su capacidad de adaptación algunas han mutado para desarrollarse y mantenerse en productos lácteos fermentados, como *K. lactis*, que atrae a los biotecnólogos por su capacidad de fermentar lactosa (Naumova *et al.*, 2012). Los riesgos y beneficios de los quesos tradicionales, principalmente quesos de leche cruda sigue siendo un debate, pero sus defensores mencionan que la alta diversidad de microbiota es un factor importante en sus cualidades (Montel *et al.*, 2014).

Secuenciación

De las 12 cepas que se aislaron del queso panela oreado se identificaron cinco especies diferentes; *Candida parapsilosis*, *Kluyveromyces lactis* NLRR Y-1140,

Yarrowia lipolytica ZIM-2496, *Candida intermedia* y *Debaryomyces hansenii* JEY420 a través de las regiones ITS. Esta información fue subida a la base de datos GenBank y el número de accesión otorgado de cada cepa se muestra en las Figuras 27-38 con las regiones localizadas.

Cabe mencionar que las levaduras con morfología lisa, que a pesar de ser aparentemente iguales a simple vista resultaron ser diferentes, primero por la longitud en pb de la región ITS amplificada por PCR. En orden descendente se describen estas levaduras: las que presentaron un fragmento ITS de mayor longitud fueron las cepas C, I correspondientes a *K. lactis* con 1200 pb; seguido de *Debaryomyces hansenii* (cepa G) con 1050 pb, *Candida parapsilosis* cepa ZIM 2448, aislado ZG7-Y187 con 1038 pb (cepa A) y *Yarrowia lipolytica* BGAL3-Y64 con 843 pb. Mientras que las siete cepas de las levaduras rugosas presentaron pb similares, y se identificaron como *Candida sp.* En las figuras 27-38 se muestran a detalle las regiones de cada secuencia de cada una de las cepas y su número de accesión al GenBank.

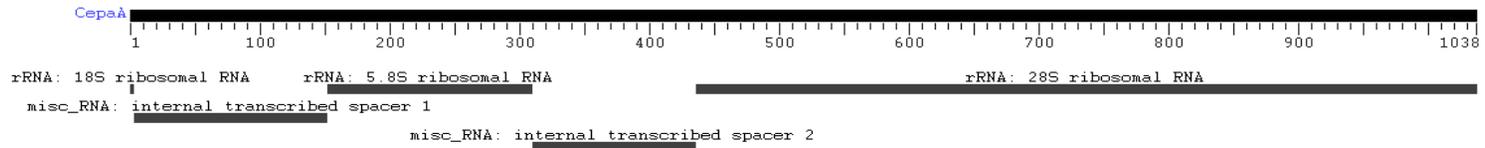


Figura 27. Cepa A. GenBank: KX981192. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial.

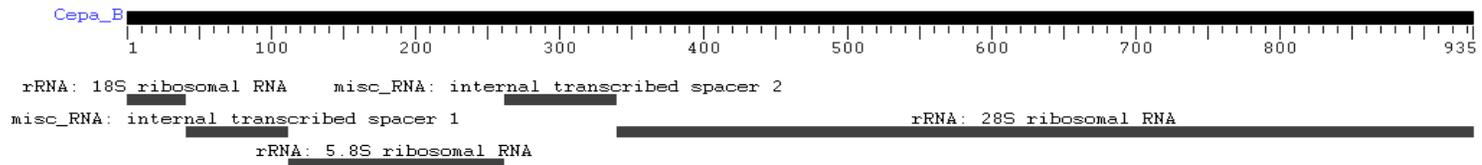


Figura 28. Cepa B. GenBank: KX981194. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial.

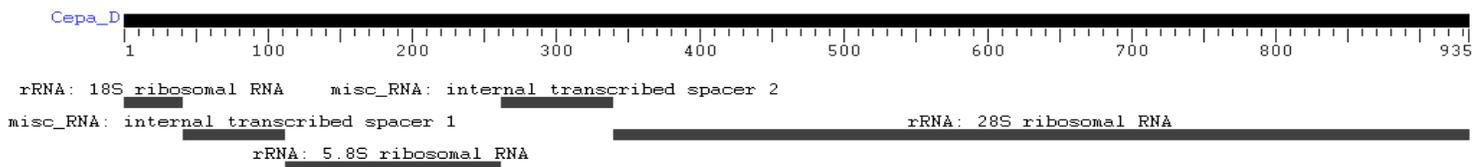


Figura 29. Cepa D. GenBank: KX981195. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial.

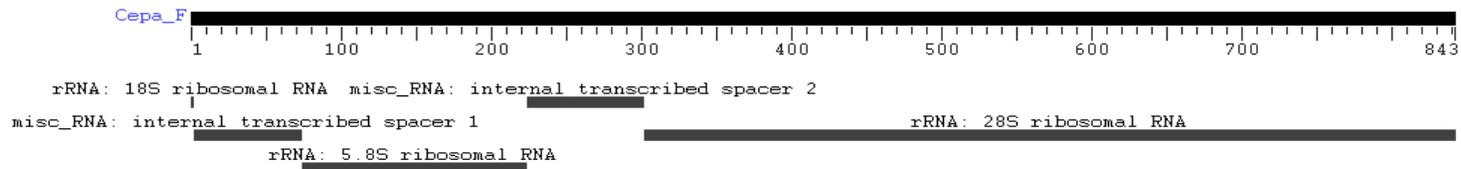


Figura 30. Ceba F. GenBank: KX981196. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial.

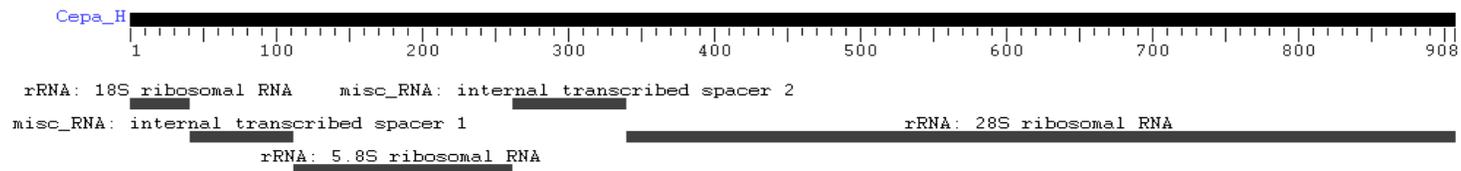


Figura 31. Ceba H. GenBank: KX981197. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial.

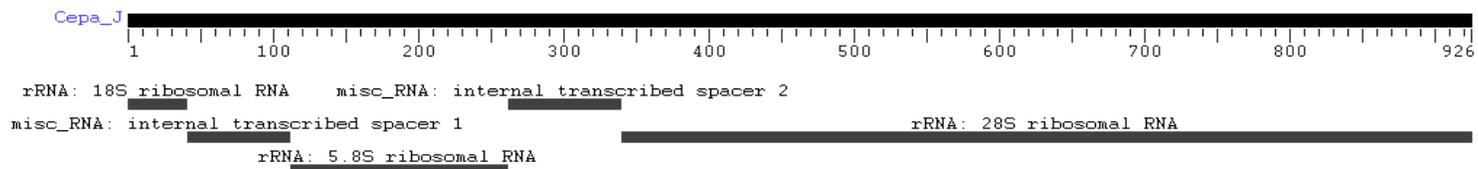


Figura 32. Ceba J. GenBank: KX981198. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial.

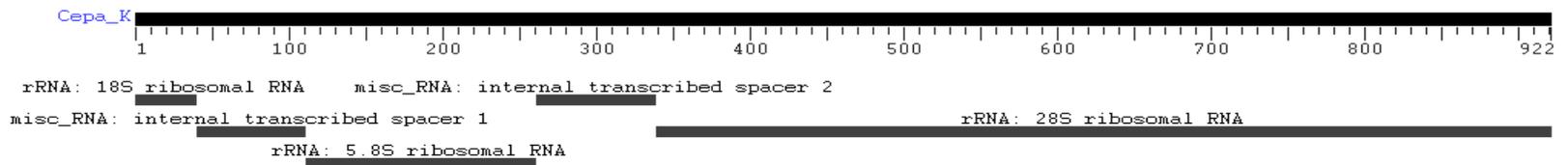


Figura 33. Cepa K. GenBank: KX981199. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial.

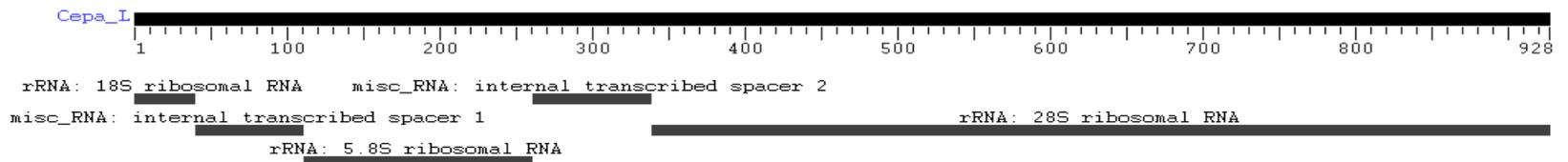


Figura 34. Cepa L. GenBank: KX981200. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial.

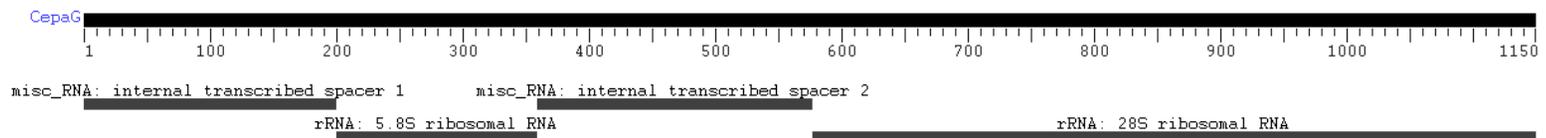


Figura 35. Cepa G. GenBank: KX981201. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial.

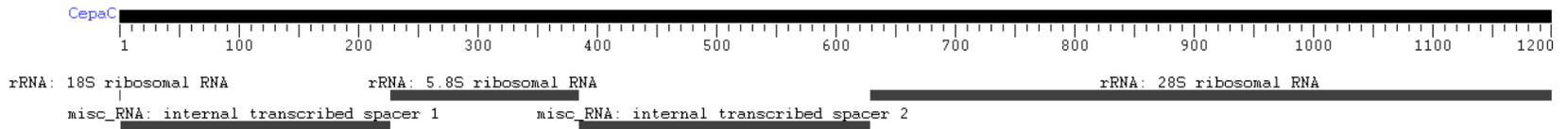


Figura 36. Cepa C. GenBank: KX981202. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial.

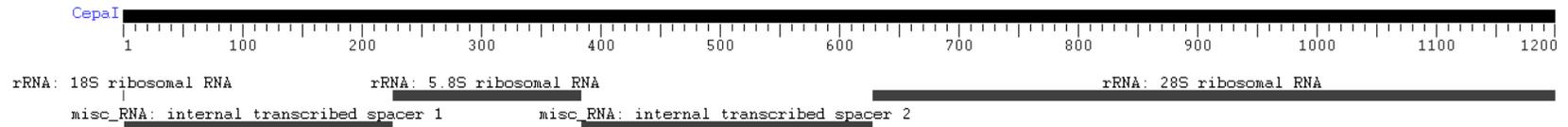


Figura 37. Cepa I. GenBank: KX981203. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial.

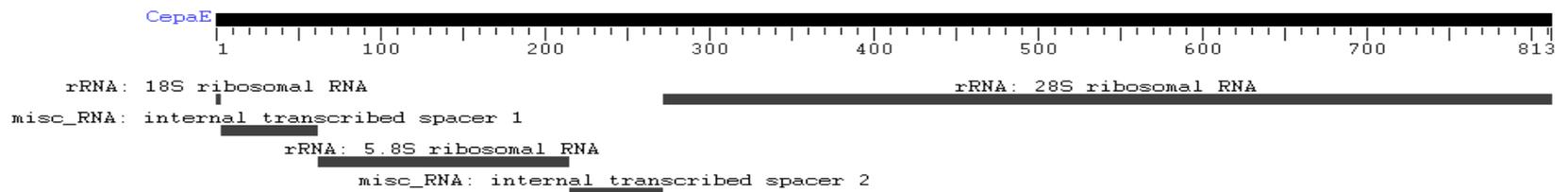


Figura 38. Cepa E. GenBank: KX981204. Gen 18S rRNA, secuencia parcial; ITS1, gen 5.8S rRNA, ITS2, secuencia completa; gen 18S rRNA, secuencia parcial.

5.4 CONCLUSIONES

La caracterización y diferenciación de levaduras mediante la técnica de PCR-ISSR permite obtener resultados confiables, reproducibles y robustos que permiten visualizar y determinar la variación genética intra e interespecífica.

La secuenciación de la región ITS de las levaduras aisladas del queso panela oreado de Soyatlán, Jalisco, permitió la identificación molecular de cinco especies que fueron *Kluyveromyces lactis*, *Debaryomyces hansenii*, *Yarrowia lipolytica*, *Candida parapsilosis* y *Candida sp.*

De acuerdo a las cepas aisladas, de las cinco especies, tres presentan potencialidad como microorganismos probióticos de acuerdo a la literatura; *Kluyveromyces lactis*, *Debaryomyces hansenii* y *Yarrowia lipolytica*. Las otras dos especies *Candida sp.*, y *Candida parapsilosis* son microorganismos contaminantes, inherentes a quesos tradicionales elaborados con leche bronca, ya que son parte de la microflora del entorno.

La biotecnología es una herramienta básica y práctica que resultaría útil para la imitación de quesos tradicionales a partir de leche pasteurizada, ya que al caracterizar la microbiota de quesos a base de leche cruda con técnicas moleculares, facilitaría la producción de quesos de calidad a través de la adición de la microbiota de interés.

Es posible que en poco tiempo la biología molecular sea una herramienta necesaria para algunos estudios en la industria láctea, especialmente en quesos de leche cruda, ya que de esta manera se puede asegurar la presencia o ausencia de microorganismos, además de posibles probióticos.

5.5 BIBLIOGRAFÍA

- Binetti, A., Carrasco, M., Reinheimer, J., y Suárez, V. (2012). Yeasts from autochthonal cheese starters: technological and function properties. *Journal Applied Microbiology*, 115, 434 – 444.
- Bonizzi, I., Buffoni, J. N., Feligini, M., and Enne, G. (2009). Investigating the relationship between raw milk bacterial composition, as described by intergenic transcribed spacer–PCR fingerprinting, and pasture altitude. *Journal of Applied Microbiology* 107, 1319–1329, DOI: 10.1111/j.1365-2672.2009.04311.x
- Braga, A., Mesquita, P. D., Amaral, L. A., Ferreira, C. E., y Belo, I. (2015). Aroma production by *Yarrowia lipolytica* in airlift and stirred tank bioreactors: Difference in yeast metabolism and morphology. *Biochemical Engineering Journal*, 93, 55-62, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/J.BEJ.2014.09.006>
- Büchl, N.R. y Seiler, H. (2011) Yeasts in Milk and Dairy Products; in Fuquay, J.W., Fox, P.F. y McSweeney (eds.) *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Elsevier Science.
- Capece, A. y Romano, P. (2009). “Pecorino di Filiano” cheese as a selective hábitat for the yeast species, *Debaryomyces hansenii*. *International Journal of Food Microbiology*. 132, 180-184.
- Cardinali, F., Taccari, M., Milanović, V., Osimani, A., Polverigiani, S., Garofalo, C., Foligni, R., Mozzon, M., Zitti, S., Raffaelli, N., Clementi, F., Aquilanti, L. (2016). Yeast and mould dynamics in Caciofiore della

- Sibilla cheese coagulated with an aqueous extract of *Carlina acanthifolia* All. Wiley Online Library. *Yeast* 33, 403–414.
- Cervantes, E. F., Villegas, G. A., Cesín, V., A., y Espinoza, O. A. (2013). Los quesos mexicanos genuinos patrimonio cultural que debe rescatarse, (2ª), Guadalajara, Jalisco, México, bba.
- Chen, L., Cui, J., Ding, Q., Ma, Y., Chen, L.J., Dong, J., Jiang, T., Maubois, J. (2012). The Effect of Yeast Species from Raw Milk in China on Proteolysis and Aroma Compound Formation in Camembert-Type Cheese. *Food Bioprocess Technol.* 5: 2548–2556.
- Chu-Shu Z., Fu-Guo, X., Selvaraj, N. J., Qing-Li, Y., Zhou, L., Yue-Ju, Z., y Liu, Y. (2013). The effectiveness of ISSR profiling for studying genetic diversity of *Aspergillus flavus* from peanut-cropped soils in China, *Biochemical Systematics and Ecology*, 50, 147-153, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bse.2013.03.046>
- Davolos, D. y Pietrangeli, B. (2007). DNA sequencing and phylogenetic analysis of allergen-encoding genes from airborne moulds and yeasts, *Prev Oggi* 3, 23-35
- Donnelly, W. C. (2014). From Pasteur To Probiotics: A Historical Overview Of Cheese And Microbes in Catherine W. Donnelly (Ed.), *Cheese and Microbes*, (1), Washington, DC, American Society for Microbiology, DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/microbiolspec.CM-0004-12>
- Gallardo, G., Ruiz-Moyano, S., Hernández, A., Benito, M. J., Córdoba, M. G., y Pérez-Nevado, F. (2015). Application of ISSR-PCR for rapids strain typing of *Debaryomyces hansenii* isolated from dry-cured Iberian ham. *Food Microbiology*, 42, 205-211
- Golić, N., Čadež, N., Terzić-Vidojević, A., Šuranská, H., Beganović, J., Lozo, J., Kos, B., Šušković, J., Raspor, P., y Topisirović, L., (2013). Evaluation of lactic acid bacteria and yeast diversity in traditional white pickled and

fresh soft cheeses from the mountain regions of Serbia and lowland regions of Croatia, *International Journal of Food Microbiology*, 166, 294-300, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.032>

Gómez, V. S (2006). Caracterización y diferenciación molecular de larvas de mosca de la fruta del genero *Anastrepha*. Tesis de Maestria. Universidad Autónoma Chapingo.

Hatoum, R., Labrie, S., Fliss, I. (2013). Identification and Partial Characterization of Antilisterial Compounds Produced by Dairy Yeast. Springer Science Business Media, LLC. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12602-012-9109-8>

Heide-Marie, D., Lachance, M.A., y Kurtzman, C. P. (2014). On the reclassification of species assigned to *Candida* and other anamorphic ascomycetous yeast genera based on phylogenetic circumscription, *Antonie van Leeuwenhoek*, 106, 67-8, DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10482-014-0170-z>

Jaccard, P. (1908). Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles*, 44, 223-70

Johnson, E., A. (2013). Biotechnology of non-Saccharomyces yeasts-the ascomycetes. *Appl Microbiol Biotechnology* 97:503–517

Kumar, S., Randhawa, A., Ganesan, K., Raghava, S. G.P., and Monda, K. A. (2012). Draft Genome Sequence of Salt-Tolerant Yeast *Debaryomyces hansenii* var., *hansenii* MTCC 234, *Journal ASM.org.*, Vol.11 No.7, *Eukaryotic Cell*, p. 961–96

Ledesma, A. R., y Nicaud, J. M. (2016). *Yarrowia lipolytica* as biotechnological chassis to produce usual and unusual fatty acids, *Progress in Lipid Research* 61, 40-50, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plipres.2015.12.001>

Lépingle, A., Casaregola, S., Neuvéglise, C., Bon, E., Nguyen, H.V., Artiguenave, F., Wincker, P., Gaillardin, C. (2000). Genomic Exploration of the Hemiascomycetous Yeasts: 14. *Debaryomyces hansenii* var., *hansenii*, Federation of European Biochemical Societies (FEBS), 487, 82-86).

Lopandic, K., Rentsendorj, U., Prillinger, H. and Sterflinger, K. (2013). Molecular characterization of the closely related *Debaryomyces* species: Proposition of *D. vindobonensis* sp. nov., from a municipal wastewater treatment plant, *The Journal of general and applied microbiology*, 59 (1), 49-58

Medina, C. N., López, A. R., Ascencio, F., Castellano, T., Campa-Córdova, A. I., y Angulo, C. (2016). Biocontrol activity of the marine yeast *Debaryomyces hansenii* against phytopathogenic fungi and its ability to inhibit mycotoxins production in maize grain (*Zea may L.*). *Biological Control* 97, 70-79. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.03.006>

MEGA v.6 (2013). Molecular Evolutionary Genetic analysis, Nueva Zelanda

Montel, M.C., Solange, B., Mallet, A., Paus, D. C., Vuitton, A. D., Desmasure, N., Berthier, F. (2014). Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. *International Journal of Food Microbiology*, 177, 136–154, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.019>

Naumova, E. S., Naumov, G. I., Nikitina, T. N., Sadykova, A. Zh., and Kondratieva, V. I. (2012). Molecular Genetic and Physiological Differentiation of *Kluyveromyces lactis* and *Kluyveromyces marxianus*: Analysis of Strains from the All-Russian Collection of Microorganisms (VKM), *Microbiology*, 81, 216-223

Nguyen, H.V., Gaillardin, C., y Neuvéglise, C. (2009). Differentiation of *Debaryomyces hansenii* and *candida famata* by rRNA gene intergenic spacer fingerprinting and reassessment of phylogenetic relationships

among *D. hansenii*, *C. famata*, *D. fabryi*, *C. flareri* (= *D. subglobosus*) and *D. prosopidis*: description of *D. vietnamensis* sp., nov. Closely related to *D. nepalensis*. FEMS Yeast, 9, 641-662, DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1567-1364.2009.00510.x>

Ochangco, S. H., Gamero, A., Smith, I. M., Christensen, E., J., Lene Jespersen, L., Arneborg, N. (2016). In vitro investigation of *Debaryomyces hansenii* strains for potential probiotic properties, World Journal Microbiol Biotechnology, 32:141 DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-016-2109-1>

Ochoa, R. M.J. (2011). Manejo de postcosecha de la antracnosis en frutos de maní "ataulfo" mediante la combinación de tratamiento hidrotérmico y *Pichia guilliermondii*. Tesis de maestría. Universidad Autónoma Chapingo.

Price, J. E., Linforth, S. R., Dodd E. R. C., Phillips, C. A., Hewson, L., Hort, J., Gkatzionis, K. (2014). Study of the influence of yeast inoculum concentration (*Yarrowia lipolytica* and *Kluyveromyces lactis*) on blue cheese aroma development using microbiological models. Food Chemistry 145, 464-472.

Rådström, P., Knutsson, R., Wolfs, P., Lövenklev, M., and Löfström, C. (2004). Pre-PCR Processing Strategies to Generate PCR-Compatible Samples, Molecular Biotechnology, 26, 133–146

Sambrook, J., Fritsch, E. F., y Maniatis, T. (1989). Molecular cloning a laboratory manual (2^a ed.), Cold Spring Harbor, N.Y

Tofalo, R. y Suzzi, G. (2016). Yeasts. University of Teramo, Mosciano Sant'Angelo (TE) Italia. Elsevier Science.

Valadez, M. E., Samah, S., Luna, P. A. (2015). Genetic diversity of *Opuntia* spp., varieties assessed by classical marker tools (RAPD and ISSR).

Plant System Evolution, 301,737-747, DOI:
<http://dx.doi.org/10.1007/s00606-014-1112-y>

Villegas, de G. A. (2012). Tecnología quesera, (2ª ed), México, Trillas

Zhang, Y., Li, X., y Wang, Z. (2013). Diversity Evaluation of *Salvia miltiorrhiza* Using ISSR Markers, *Biochemical Genetic*, 51, 707-721, DOI:
<http://dx.doi.org/10.1007/s10528-013-9600-2>

ANEXOS

Anexo 1

CUESTIONARIO PERFIL PROVEEDORES DE LECHE

Nombre: _____

1. ¿Cuántos años tiene como ganadero?

2. Características de la propiedad
 - a) Régimen (ejidal, comunal o pequeña propiedad)
 - b) Superficie (m², ha)
 - c) ¿Qué produce?

3. Alimentación del hato
 - a) ¿Qué comieron las vacas ayer?
 - b) ¿Utiliza concentrados?
 - c) ¿Utiliza suplementos y qué tipo? (pasto de corte, melaza, gallinaza, maíz, caña, bagazo, sales minerales, sal común, alimentos balanceados)

4. Características del hato
 - a) ¿Cuántas vacas tiene?
 - b) Vacas en ordeña actualmente
 - c) Tipo de producción (solo leche o doble propósito)
 - d) Raza de las vacas
 - e) Tipo de reproducción

5. Características de la producción de leche
 - a) ¿Meses en que ordeña, la mayoría de sus vacas?
 - b) ¿Cuál es el tipo de ordeño que usa, manual o mecánico?
 - c) ¿Cuántos litros de leche obtuvo en la ordeña de ayer?
 - d) ¿Cuántas vacas ordeñó ayer?

- e) ¿Cuántos meses duran en ordeña sus vacas?
- f) ¿Cuántos litros de leche obtiene por vaca?
- g) ¿Cómo ordeña (con apoyo del becerro o sin apoyo)?
- h) ¿Lava y seca pezones antes del ordeño?
- i) ¿Aplica presellador y sellador?
- j) ¿Su hato está en el programa de control de brucelosis y tuberculosis?
- k) ¿Sus vacas tienen mastitis?

6. Comercialización

- ¿De qué material son los recipientes para el transporte de leche?
- ¿Cuántos compradores de leche tienen?
- ¿Qué precio le pagan por litro de leche?
- ¿Su comprador le paga por calidad o maneja solo un precio?

Observaciones:

Anexo 2.

CUESTIONARIO PERFIL QUESEROS

Nombre: _____

1. ¿Cuántos tipos de quesos produce?

un tipo		dos tipos		tres tipos	
---------	--	-----------	--	------------	--

2. ¿Cuáles?

3. ¿Cuál de estos quesos vende más?

4. ¿Cuánto tiempo se ha dedicado a la producción de queso?

5 años o menos		5-10 años		más de 10 años	
----------------	--	-----------	--	----------------	--

5. ¿Qué volumen de leche procesa al día en secas?

51 -100L	
101 - 150L	
151 - 200L	
201 - 300L	
Más de 300L	

6. ¿Qué volumen de leche procesa al día en lluvias?

51 -100L	
101 - 150L	
151 - 200L	
201 - 300L	
Más de 300L	

7. ¿Compra la leche?

Sí		No	
----	--	----	--

8. ¿Qué precio paga por litro de leche en época de lluvias?

9. ¿Qué precio paga por litro de leche en tiempo de secas?

10. ¿Cuántos proveedores tiene?

0		1-5		Más de 5	
---	--	-----	--	----------	--

11. ¿Cuánto le duran los proveedores?

12. ¿Dónde vende su queso?

13. ¿Cuál es el precio de renta del queso panela en lluvias y secas?

14. ¿La mano de obra es familiar o asalariada?

Familiar		Asalariada	
----------	--	------------	--

15. ¿Cuántas personas trabajan en la quesería en la época de mayor producción?

1-3 personas	
4-6 personas	
Más de 6 personas	

16. ¿Cómo aprendió a hacer queso?

Observación e imitación	
Tradición familiar	
Capacitación	

17. ¿Tiene algún sucesor en la quesería?

18. ¿Puede explicar su proceso de producción?

19. ¿Cuál es su edad?

20 a 35	
36 a 40	
41 a 55	
Más de 56	

20. Escolaridad

No escolaridad	
Primaria	
Secundaria	
Preparatoria	
Profesional	

Observaciones:

Anexo 3. Técnicas para evaluar atributos del queso panela oreado.

Atributo	Técnica para evaluar
Amarillamiento	Tomar la muestra y colocarlo a la referencia que más se parezca (RB o RA). Emitir la percepción.
Apariencia húmeda	Observar la muestra y comparar la humedad presente en la superficie del queso con las referencias. Nota: la muestra puede levantarse y girar de un lado a otro para una mayor percepción de humedad.
Agujeros	Evaluar la cantidad de agujeros presentes en el queso panela de acuerdo a las dos referencias. Para el caso de la RB; partir el queso y observar los agujeros de dicha referencia y calificar.
Aroma láctea fermentado	En el caso de la RB, partir el queso y oler por 3 s, en seguida evaluar la muestra y de ser necesario utilizar la segunda referencia (RA).
Firmeza en cavidad bucal	Este atributo se evalúa con fuerza aplicada a la primera mordida con los dientes frontales. Se evaluará de la siguiente manera; la primera mordida con los dientes frontales y dos mordidas con los molares, para finalizar el producto masticado en el paladar. El tiempo de degustación deberá de ser de 5 segundos.
Desmoronamiento	Una mordida con los dientes frontales y dos con los molares para mantener el queso masticado, en el paladar.
Salado	Este atributo se calificara de la misma manera que el atributo salado.
Ácido	Probar la referencia baja, enjuagarse la boca con agua y evaluar la muestra.
Sabor a lácteo fermentado	

RB = Referencia baja

RA = Referencia alta

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.

Anexo 4. Valores de panel, panel*trat y F de los nueve descriptores sensoriales del queso panela oreado.

Atributo	Panelistas eliminados	Interacción	Pr>F
Amarillamiento	2	Panel	0.4444
		Panel*trat	0.1779
		F	1.38
Apariencia humedad	0	Panel	0.0092
		Panel*trat	0.2613
		F	1.20
Presencia de "agujeros"	3	Panel	0.0415
		Panel*trat	0.1014
		F	1.61
Aroma lácteo fermentado	2	Panel	<.0001
		Panel*trat	0.0530
		F	1.76
Firmeza en cavidad bucal	3	Panel	<.0001
		Panel*trat	0.1132
		F	1.57
Desmoronamiento	3	Panel	<.0001
		Panel*trat	0.0697
		F	1.74
Sabor salado	1	Panel	<.0001
		Panel*trat	0.1032
		F	1.52
Sabor ácido	4	Panel	0.0075
		Panel*trat	0.2119
		F	1.34
Sabor a lácteo fermentado	0	Panel	<.0001
		Panel*trat	0.4073
		F	1.06

Fuente: Elaboración propia con datos experimentales.