



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

**Evaluación de microorganismos de kéfir
como cultivo iniciador para la elaboración
de queso madurado**

Tesis

**QUE PARA OBTENER GRADO DE
LICENCIADO(A) EN INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

PRESENTA:

OMAR FLORES VÁZQUEZ

DIRECTOR:

DR. HÉCTOR RUIZ ESPINOSA

CO-DIRECTORA:

DRA. PAOLA HERNÁNDEZ CARRANZA

BUAP

H. Puebla Z., Agosto de 2019

Agradecimientos

Gracias a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por haberme permitido formarme en ella, a todas las personas que fueron participes de este proceso, ya sea de manera directa o indirecta y a todo aquel que se ha tomado el tiempo para revisar esta investigación.

Gracias a mi familia, a mis padres Omar y María Luisa que fueron mis mayores promotores durante este proceso, por su tiempo y paciencia durante el periodo de la realización de esta investigación y de la culminación de mis estudios.

Debo agradecer de manera especial y sincera al Dr. Héctor Ruiz Espinosa por aceptarme para realizar esta tesis bajo su dirección. Su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas ha sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación personal. Las ideas propias, siempre enmarcadas en su orientación, han sido la clave del buen trabajo que hemos realizado, el cual no se puede concebir sin su participación y apoyo.

Quiero expresar también mi más sincero agradecimiento a la Dra. Paola Hernández Carranza por su importante aporte y participación activa en el desarrollo de esta tesis. Debo destacar, por encima de todo, su disponibilidad y paciencia que tuvo durante este largo tiempo de la investigación, no cabe duda que su participación ha enriquecido el trabajo realizado y, además, ha significado el surgimiento de nuevas ideas así como una formación profesional y ética. Le agradezco también el haberme facilitado siempre los medios suficientes para llevar a cabo todas las actividades propuestas durante el desarrollo de esta tesis.

Agradezco a mis compañeros y amigos que estuvieron a mi lado durante los momentos en los que necesite de ellos, así como en los buenos momentos que compartimos juntos durante este tiempo y por todo lo que me aportaron para mi desarrollo personal y profesional.

ÍNDICE

ÍNDICE.....	3
Índice de Tablas.....	6
Índice de Figuras	7
INTRODUCCIÓN.....	8
OBJETIVOS.....	10
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	11
1.1. Leche.....	11
1.1.1. Definición.....	11
1.1.2. Composición química.....	11
1.2. Productos lácteos fermentados.....	13
1.3. Kéfir	13
1.3.1. Características y microbiota de kefir.....	14
1.3.2. Beneficios de salud atribuidos al consumo de kéfir.....	15
1.3.3. Elaboración de kéfir	16
1.3.4. Usos de kéfir para el desarrollo de nuevos productos alimenticios	16
1.4. Bacterias ácido-lácticas.....	18
1.4.1. Características	18
1.4.2. Principales géneros de bacterias ácido lácticas.....	19
1.5. Queso.....	20
1.5.1. Clasificación de quesos.....	20
1.6. Tipos de cultivos	22
1.6.1. Cultivos iniciadores.....	22
1.6.2. Cultivos adjuntos.....	23
1.7. Textura de quesos.....	23
1.7.1. Análisis del Perfil de Textura (TPA)	24
1.7.2. Parámetros evaluados en un TPA	25
2. MATERIALES Y MÉTODOS	26
2.1. Plan de investigación.....	26
2.2. Materiales.....	27
2.3. Metodología	28
2.3.1. Acondicionamiento del cultivo artesanal	28
2.3.2. Separación de cultivos.....	28

2.3.3	Caracterización preliminar de microorganismos	28
2.3.4	Aislamiento, identificación y selección de microorganismos de kéfir	29
2.3.4.1	Resistencia a un medio salino.....	29
2.3.4.2	Cinética de crecimiento	30
2.3.5	Técnica de PCR	31
2.3.6	Cinética de pH y acidez.....	32
2.3.7	Evaluación de crecimiento empleando tasas de adición controladas	33
2.3.8	Elaboración de queso.....	34
2.3.9	Caracterización de quesos madurados.....	35
2.3.9.1	Análisis de perfil de textura.....	35
2.3.9.2	Color	36
2.3.9.3	Conteo de microorganismos indicadores en queso	36
2.3.9.4	Diseño de experimentos y Análisis estadístico	37
3.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	¡Error! Marcador no definido.
3.1.	Identificación de microorganismos en consorcio de kéfir artesanal ..	¡Error! Marcador no definido.
3.2	Curvas de acidificación de microorganismos	¡Error! Marcador no definido.
3.3	Composición de leche para quesería	¡Error! Marcador no definido.
3.4	Caracterización de queso fresco.....	¡Error! Marcador no definido.
3.5	Análisis de perfil de textura	¡Error! Marcador no definido.
3.5.1	Dureza	¡Error! Marcador no definido.
3.5.2	Elasticidad	¡Error! Marcador no definido.
3.5.3	Cohesividad.....	¡Error! Marcador no definido.
3.5.4	Masticabilidad	¡Error! Marcador no definido.
3.5.5	Resiliencia	¡Error! Marcador no definido.
3.6	Análisis de pH.....	¡Error! Marcador no definido.
3.7	Análisis de Color en el queso.....	¡Error! Marcador no definido.
3.7.1	Parámetro a^* (rojo-verde).....	¡Error! Marcador no definido.
3.7.2	Parámetro b^* (azul-amarillo)	¡Error! Marcador no definido.
3.7.3	Parámetro L (luminosidad)	¡Error! Marcador no definido.
3.8	Crecimiento microbiano.....	¡Error! Marcador no definido.
3.8.1	Coliformes totales	¡Error! Marcador no definido.

3.8.2	Hongos y levaduras	¡Error! Marcador no definido.
3.8.3	Bacterias ácido lácticas	¡Error! Marcador no definido.
	CONCLUSIONES	¡Error! Marcador no definido.
	RECOMENDACIONES.....	¡Error! Marcador no definido.
	BIBLIOGRAFÍA	¡Error! Marcador no definido.
	ANEXOS	¡Error! Marcador no definido.
a)	Modelo lineal general a una temperatura de 8°C	¡Error! Marcador no definido.
b)	Modelo lineal general a una temperatura de 12°C	¡Error! Marcador no definido.
d)	ANOVA de pH a 12 grados	¡Error! Marcador no definido.
e)	ANOVA de parámetro a* a 8 grados	¡Error! Marcador no definido.
f)	ANOVA de parámetro a* a 12 grados	¡Error! Marcador no definido.
g)	ANOVA de parámetro b* a 8 grados	¡Error! Marcador no definido.
h)	ANOVA de parámetro b* a 12 grados	¡Error! Marcador no definido.
i)	ANOVA de Luminosidad a 8 grados	¡Error! Marcador no definido.
j)	ANOVA de Luminosidad a 8 grados	¡Error! Marcador no definido.

Índice de Tablas

Tabla 1. Composición química de leche de vaca.....	12
Tabla 2. Producción industrial de leche y derivados	12
Tabla 3. Especificidad, tamaño del fragmento amplificado y región o gen amplificado	32
Tabla 4. Combinación de microorganismos para la elaboración de queso madurado	34
Tabla 5. Especificidad, tamaño del fragmento amplificado y la región o gen amplificado	39
Tabla 6. Composición de leche bovina entera y estandarizada.....	42
Tabla 7. Cambios texturales de quesos elaborados con bacterias ácido lácticas aisladas de kéfir durante maduración a 8°C	43
Tabla 8. Cambios texturales de quesos elaborados con bacterias ácido lácticas aisladas de kéfir durante maduración a 12°C	44
Tabla 9. pH de quesos madurados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 8°C	53
Tabla 10. pH de quesos madurados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 12°C	53
Tabla 11. Parámetro a^* de quesos madurados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 8°C	54
Tabla 12. Parámetro a^* de quesos madurados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 12°C	54
Tabla 13. Parámetro b^* de quesos madurados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados durante 14 días a 8°C	55
Tabla 14. Parámetro b^* de quesos madurados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 12°C	55
Tabla 15. Luminosidad de quesos madurados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 8°C	56
Tabla 16. Luminosidad de quesos madurados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 12°C	56

Índice de Figuras

Figura 1. Gránulos de kéfir	15
Figura 2. Curva típica de TPA	24
Figura 3. Grafica de interpretación de TPA	26
Figura 4. Diseño del plan de trabajo	26
Figura 5. Método de siembra de Miles y Misra	30
Figura 6. Procedimiento de elaboración de quesos madurados	35
Figura 7. Identificación de bacterias ácido lácticas por electroforesis en gel de agarosa.....	39
Figura 8. Curvas de acidificación y pH de microorganismos aislados de kéfir comparados con un cultivo comercial	46
Figura 9. Evolución del perfil de dureza de quesos elaborados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial madurados a 8°C (A) o 12°C (B)	46
Figura 10. Evolución del perfil de elasticidad de quesos elaborados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial madurados por 14 días a 8°C (A) o 12°C (B)	47
Figura 11. Evolución del perfil de cohesividad de quesos elaborados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 8°C (A) o 12°C (B)	48
Figura 12. Evolución del perfil de masticabilidad de quesos elaborados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 8°C (A) o 12°C (B)	50
Figura 13. Evolución del perfil de resiliencia de quesos elaborados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 8°C (A) o 12°C (B)	52
Figura 14. Cinética de crecimiento de Coliformes Totales de quesos elaborados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 8°C (A) y 12°C (B)	57
Figura 15. Cinética de crecimiento de Hongos y levaduras de quesos elaborados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 8°C (A) y 12°C (B)	58
Figura 16. Cinética de crecimiento de Bacterias Acido Lácticas de quesos elaborados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 8°C (A) y 12°C (B)	59

INTRODUCCIÓN

El mercado de productos lácteos a nivel global se ha incrementado en los últimos años; el consumo *per cápita* ascendió a un promedio de 150 kg/año (FAO, 2018). Dentro de esta categoría de productos, el kéfir, conocido coloquialmente en México como leche de búlgaros, es un producto lácteo fermentado con un consorcio microbiano complejo y variante que ha adquirido importancia comercial en tiempos recientes. De acuerdo a diversas evidencias científicas y por tradición, se le considera útil como promotor de salud del sistema digestivo, incidiendo además en la salud cardiovascular a través de la reducción de la absorción de colesterol y la disminución de la presión arterial, entre otras; asimismo, también se ha demostrado que posee propiedades antimicrobianas y antimutagénicas (Korhonen y Pihlanto, 2006).

El kéfir es un lácteo fermentado por un consorcio microbiano complejo conformado por bacterias ácido lácticas y levaduras. Dado que se percibe como un producto saludable (Ahmed *et al.*, 2013), las tendencias de desarrollo de productos han impulsado aquellos estudios enfocados en la caracterización de su microbiota compleja (García-Fontan *et al.*, 2006) con miras a promover su uso como cultivos iniciadores mediante la adecuada selección de microorganismos aptos para este propósito.

Un cultivo iniciador puede ser definido como una preparación microbiana que contiene una gran cantidad de células de por lo menos un microorganismo, el cual se añade a la materia prima para producir un alimento fermentado. Las bacterias ácido lácticas (BAL) ocupan un papel central en estos procesos (Broome, 2003), ya que causan una rápida acidificación de la materia prima, producen ácidos orgánicos principalmente ácido láctico, y mejoran la apariencia de los alimentos (Mendia *et al.*, 2000). De manera particular el uso de cultivos iniciadores en quesos genera la inhibición de bacterias indeseables, mejora el drenaje del suero, produce sabores y aromas característicos y ácido láctico controlado, también ayuda a la acción de cuajo (Ozer, 1999).

Uno de los productos alimenticios de mayor demanda y aceptabilidad en la población mexicana es la leche bovina, debido a la cantidad y calidad de nutrientes que

posee y a los beneficios que éstos pueden aportar al ser humano. Diversos productos lácteos son elaborados a partir de leche mediante procesos como: la fermentación y/o acciones físicas o fisicoquímicas que modifican la materia prima y la transforman en diversos tipos de semisólidos o sistemas coloidales con características tecnológicas y sensoriales únicas; dentro de ellos uno de los más notables es el queso, por su complejidad fisicoquímica y su gran número de variantes en términos sensoriales y funcionales.

La demanda de queso se ha venido incrementado constantemente, por tratarse de un producto con mayor vida de anaquel y facilidad de transporte que la leche, lo cual le permite una mejor comercialización con respecto a otros derivados lácteos (Hervás-Serrabajo, 2012). En México se consumen gran variedad de quesos, tanto frescos (panela, queso blanco) como madurados (añejo, tipo *manchego*) que tienen una amplia aceptación entre los consumidores. De acuerdo con la Cámara Nacional de la Leche y Productos Lácteos de México reportó en (2018) que el queso ha tenido un aumento en su consumo y producción en un 3% anual en años recientes. En tiempos recientes, potenciado por el creciente interés de los consumidores en los quesos madurados, la industria láctea se ha enfocado en buscar nuevas fuentes de bacterias ácido-lácticas, tanto iniciadoras como no iniciadoras (NSALB, por sus siglas en inglés) que sean benéficas para el desarrollo de características funcionales y sensoriales de quesos y otros lácteos fermentados. Algunas de esas fuentes exploradas incluyen productos de origen lácteo, como quesos doble crema, tipo Oaxaca (Fuentes-Fanegas *et al.*, 2017) y adobera (Ruvalcaba-Gómez, 2015) de origen artesanal, y diversos productos no lácteos, incluyendo diversas plantas y algas locales (Kuda *et al.*, 2016), masa auto fermentada de salvado de trigo (Manini *et al.*, 2016), ginseng y geranio (Teneva-Angelova y Beshkova, 2015). Recientemente, se han desarrollado diversas investigaciones para evaluar el uso de microorganismos aislados de kéfir como cultivos iniciadores de otros productos fermentados (Goncu y Alpkent, 2005; García-Fontan *et al.*, 2006), incluyendo distintos tipos de productos lácteos. Se han reportado variaciones importantes en factores selectos de calidad de estos productos lácteos fermentados por bacterias ácido lácticas de kéfir, atribuibles a diferencias entre las condiciones de producción y, específicamente, a las diferentes cepas microbianas

propias de cada región que hacen del kéfir un producto único en cada zona, pues puede estar conformado por un consorcio microbiano único. Considerando lo anterior, se estima que bacterias aisladas de un kéfir producido regionalmente y elaborado de manera artesanal pueden evaluarse como fuente de microorganismos capaces de fungir como un cultivo iniciador para la elaboración de un queso madurado de leche bovina, analizando la viabilidad de su uso de acuerdo a su potencial fermentativo y a las características de calidad del producto terminado; por ello, se definen los siguientes objetivos del presente trabajo.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el uso de microorganismos presentes en un consorcio de kéfir artesanal como microorganismos iniciadores o no iniciadores para la elaboración de un queso madurado de leche bovina.

Objetivos específicos

- Aislar e identificar los microorganismos presentes en un consorcio de kéfir artesanal proveniente de Huamantla, Tlaxcala.
- Elaborar quesos madurados con leche bovina empleando diferentes proporciones de bacterias ácido-lácticas como cultivo iniciador o adjunto a un cultivo iniciador comercial.
- Determinar parámetros fisicoquímicos (perfil de textura, color triestímulo, pH) y cuentas de microorganismos iniciadores para evaluar la calidad de los quesos elaborados y durante su almacenamiento.

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. Leche

1.1.1. Definición

La leche es un alimento completo rico en proteínas, grasas, vitaminas y minerales por lo que se define como: el producto interno y fresco de la ordeña de un mamífero que se encuentre exento de calostro. El calostro bovino es un fluido previo a la leche, el cual es producido por las glándulas mamarias de la vaca durante los primeros días de nacimiento del becerro, que provee de nutrientes y defensas a la cría, al mismo tiempo puede proveer residuos de medicamentos que la madre pudiera tener en su sistema, por lo que, la leche de vaca establecida para consumo humano excluye su consumo 15 días antes del parto y 5 días después del mismo (NOM-091-SSA1-1994).

1.1.2. Composición química

La composición de la leche varía considerablemente con la raza de la vaca, el estado de lactancia, alimento, época del año y muchos otros factores. Sin embargo, algunas de las relaciones entre los componentes son muy estables y pueden ser utilizados para indicar si ha ocurrido alguna adulteración en la composición de la leche. En la Tabla 1 se presenta la composición general de la leche de vaca.

La leche es un producto altamente perecedero que debe ser enfriado a 4°C, lo más rápidamente posible luego de su ordeña. Condiciones inadecuadas de almacenamiento (p.e. temperaturas por arriba de 15°C) pueden deteriorar su calidad rápidamente, debido a la proliferación microbiana nativa y contaminante, que genera cambios bioquímicos y fisicoquímicos; debido a su limitada vida útil, la leche es frecuentemente transformada en diversos productos derivados, donde destacan los fermentados. Con una amplia variedad de cultivos iniciadores, los lácteos fermentados incluyen innumerables variedades de quesos, bebidas fermentadas, yogurt y productos de consorcios microbianos complejos, como el kéfir.

Tabla 1. Composición química de leche de vaca

Nutriente	Contenido (g/100g)
Agua	87.1
Energía (Kcal)	61
Proteína	3.3
Grasa	4.0
Lactosa	4.6
Minerales	0.70

Fuente: Walstra *et al.*, 2006

Entre los productos lácteos típicamente elaborados y consumidos en México destacan algunos como los reportados en la Tabla 2; en ésta puede observarse que, de acuerdo a la Cámara Nacional de la Industrial de la Leche (CANILAC), se ha presentado un aumento en la producción de alimentos derivados de la leche, incluyendo productos fermentados, en el periodo 2013-2017.

Tabla 2. Producción industrial de leche y derivados.

	2013	2014	2015	2016	2017
Leche pasteurizada	2,490,216	2,401,458	2,367,031	2,363,214	2,333,607
Leche ultra pasteurizada	1,257,154	1,165,700	1,180,084	1,258,429	1,276,472
Yogurt	767,436	733,820	764,820	771,439	714,964
Crema	182,119	193,690	198,796	197,239	175,162
Leche en polvo	263,373	244,855	251,280	258,188	258,741
Queso (diversos tipos)	323,944	253,573	363,271	375,597	397,983
Mantequilla	20,921	19,530	23,159	25,752	27,153

Fuente: CANILAC, 2018.

1.2. Productos lácteos fermentados

Los productos lácteos fermentados constituyen una categoría diversa, conformada por productos altos en grasa (crema ácida, mantequilla), variedades regionales como *kéfir* y *labneh*, cientos de variedades de quesos con diferentes métodos de coagulación, yogurt (griego, batido y tipo danés o fruta en el fondo) y una amplia gama de bebidas fermentadas, donde destacan recientemente las consideradas probióticas. En conjunto, la mayoría de estos productos son considerados saludables y naturales, apelando a un mercado cada vez más orientado a la prevención de enfermedades y a hábitos saludables de consumo. Posiblemente, los quesos sean los productos lácteos fermentados con registros históricos más antiguos. Aunque originalmente localizados en ciertas regiones europeas, desde hace varias décadas estos productos se han incorporado a las dietas diarias de los consumidores de todo el mundo debido a que, además de ser sensorialmente atractivos, los quesos favorecen al desarrollo de microbiota saludable y aportan macro y micronutrientes esenciales. Además, a muchos quesos hoy en día se les han incorporado también bacterias probióticas para generar un desplazamiento de los microorganismos patógenos; estos probióticos han sido aislado de fuentes vegetales, de excremento de niños o infantes y de productos lácteos artesanales (Teubner *et al.*, 2002). Por su diversidad de microbiota, el kéfir puede ser aprovechado como fuente de este tipo de microorganismos.

1.3. Kéfir

El kéfir es una bebida láctea fermentada que ha sido consumida durante cientos de años; su origen no está definido por completo, pero los datos más recientes lo ubican en las regiones montañosas del Cáucaso, en Asia central, en Rusia y en algunas zonas de Europa del Este. Esta bebida se caracteriza principalmente por su sabor ácido-alcohólico con una ligera efervescencia (Wszolek *et al.*, 2006).

El origen etimológico de la palabra kéfir es incierto, aunque se considera puede proceder de la palabra turca *keyif* (que se traduce como *bienestar*) o de la persa *köpiür*

(*espuma*). Esta bebida recibió este nombre debido a la agradable sensación percibida después de su consumo (Machado *et al.*, 2013). El consumo habitual del kéfir siempre se le ha considerado saludable y entre los habitantes del Cáucaso se le considera un elemento clave para la inusual longevidad de los habitantes de la región (Kuwabara *et al.*, 1995; Rodríguez *et al.*, 2017). En México, este producto localmente conocido como *leche de búlgaros*, se ha consumido de manera casera por generaciones y, hasta recientemente, se ha introducido a supermercados a través de la marca líder en el mercado internacional (Lifeway®), pero con productos importados.

1.3.1. Características y microbiota de kéfir

El kéfir es una bebida ácido-alcohólica elaborada a base de leche (y en ocasiones, de agua) inoculada con una mezcla compleja de bacterias; el producto final es similar en consistencia a un yogurt para beber. La fermentación es compleja, y genera etanol y CO₂, además de diversos ácidos orgánicos, destacando el ácido láctico, los cuales en conjunto generan un sabor característico, el cual puede variar sensiblemente por región, por lo que, dependiendo de las características de la leche, las condiciones climatológicas en la que se desarrollen los productos y el tipo de microbiota local se obtienen bebidas con propiedades diferentes y únicas (García-Fontán *et al.*, 2006).

El consorcio de microorganismos responsables de la producción de kéfir está conformado por una mezcla compleja de levaduras y Bacterias Ácido Lácticas (BAL). Algunas de las principales BAL que han sido identificadas en los gránulos incluyen a diferentes especies de *Lactobacillus* tales como *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. helveticus*, *L. kefir*, *L. parakefir*; *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus thermophilus*, entre otros (Goncu y AlpKent, 2005; Witthuhn *et al.*, 2005; Tamime, 2006). Por otra parte, dentro de las levaduras destacan *Kluyveromyces marxianus*, *Torula kefir*, *Saccharomyces exiguus*, *Candida lambica*, *Kluyveromyces lactis*, *Pinchia fermentans.*, *Kluyveromyces sp.*, *Saccharomyces sp.*, *Zygosaccharomyces sp* (Witthuhn *et al.*, 2005; Goncu y AlpKent, 2005). Este consorcio, que en ocasiones puede ser tan numeroso como para contener decenas de

microorganismos diferentes, se encuentra embebido en una matriz de proteínas, polisacáridos y lípidos denominada grano, coexistiendo en una asociación simbiótica. Los granos de kéfir se mantienen unidos por una matriz de monosacáridos llamada kefiran (glucosa y galactosa) en la que se pueden encontrar BAL y levaduras, presentando una forma final similar a un florete de coliflor. Esta macroestructura es la que se emplea como inóculo, para producir la bebida antes mencionada.



Figura 1. Gránulos de kéfir. **Fuente:** Angulo, 1992.

1.3.2. Beneficios de salud atribuidos al consumo de kéfir

Dentro de los beneficios que otorga el kéfir están propiedades biológicas y potenciales aplicaciones terapéuticas; debido a que el kéfir es una fuente importante de fósforo el cual contribuye al crecimiento celular y otorga energía. Además, favorece el desarrollo y fortalecimiento del sistema inmune y la regeneración de tejidos celulares (Arslan, 2015), se ha demostrado que disminuye problemas de dermatitis atópica, aterosclerosis, diabetes, hipertensión, estreñimiento, infecciones intestinales e infecciones de la piel (Olivo *et al.*, 2017). En el tracto intestinal favorece la absorción de nutrientes y la prevención de diarrea y cáncer de colon (Marshall, 1993), así mismo, ha demostrado un aumento en el tratamiento positivo de colitis, estreñimiento, trastornos digestivos e intolerancia a la lactosa (Olivo *et al.*, 2017). Por otro lado, se ha descubierto que el kéfir presenta una actividad antagonista de las BAL el cual se debe a la producción de metabolitos con acción antimicrobiana tales como: ácido láctico, ácido acético, peróxido de hidrógeno, diacetilo y bacteriocinas (Ramírez-López y Vélez-Ruiz, 2012). Las bacteriocinas son un pequeño grupo de péptidos antimicrobianos producidos por numerosas bacterias que inhiben el crecimiento de otras bacterias, se ha demostrado la presencia de cepas bacterianas productoras de

bacteriocinas en los granos de kéfir (Miao *et al.*, 2014). Adicionalmente, el kéfir cuenta con una gran cantidad de beneficios para el consumidor, siendo uno de los más importantes es la actividad antitumoral que ha presentado en diversos estudios e investigaciones (Rodríguez *et al.*, 2017).

1.3.3. Elaboración de kéfir

Durante la elaboración de kéfir de manera tradicional se puede perder el equilibrio de los microorganismos debido a un exceso de lavado del consorcio, teniendo como resultado un producto de calidad distinta a la esperada, al no generar las propiedades buscadas dentro de este sistema alimenticio, sin embargo, la manera tradicional de elaborarlo es empleando leche de vaca cruda o hervida para posteriormente ser añadido con consorcios microbianos dentro de un envase previamente lavado, dejándolos fermentar durante un periodo de 24 h a temperatura ambiente la cual oscila entre unos 15 a 25 ° C, posteriormente se filtra la leche, obteniendo así el kéfir y recuperando los microorganismos para poder ser reutilizados en el siguiente lote, el cual previamente es lavado en agua potable.

1.3.4. Usos de kéfir para el desarrollo de nuevos productos alimenticios

El consorcio microbiano de kéfir se ha propuesto recientemente como fuente de microorganismos para la elaboración de diferentes productos lácteos fermentados, desarrollando propiedades sensoriales y fisicoquímicas específicas en éstos. Entre otros productos, se ha utilizado como cultivo iniciador en la elaboración de quesos regionales; asimismo, algunas BAL aisladas de kéfir se han empleado para la elaboración de subproductos de lactosuero dulce proveniente de la elaboración de quesos, generando bebidas alcohólico-fermentadas con un perfil sensorial característico. Por otro lado, el uso común como cultivo iniciador ha abierto la posibilidad de su estudio en proporciones diferentes, en medios específicos y controlados para evaluar el comportamiento de las cepas. Además, se ha utilizado para la elaboración de productos innovadores y estudios de sus propiedades, algunos de estos productos incluyen la elaboración de quesos semi madurados de diferentes zonas

en los que se estudia su comportamiento y características fisicoquímicas de los productos. Algunos productos fermentados elaborados con kéfir como inóculo se describen a continuación. Zambrano-Arias y Zambrano-Zambrano (2013) elaboraron una bebida láctea a partir del lacto suero de leches fermentadas utilizado para la acidificación, de una mezcla de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus acidophilus*. Por otro lado Plessas *et al.*, (2016) reportaron que el consorcio microbiano de kéfir puede variar según la zona en la que se encuentre así como los beneficios que estos pueden aportar según el tipo de microorganismo que el consorcio presente; sin embargo, la creación de alimentos funcionales no se limita solo al uso de productos lácteos como medios de transporte, si no de igual forma se han utilizado en vegetales y frutas para generar nuevos productos alimenticios, que generen un beneficio para su consumo al aportarle diferentes nutrientes a su organismo. Por su parte, Mei *et al.*, (2015) emplearon microorganismos de kéfir como cultivos iniciadores para la elaboración de queso tipo Camembert, en el que reportan una disminución de pH hasta 5.35 en los primeros 5 días de maduración del queso, para posteriormente observar un aumento lineal del mismo hasta alcanzar un pH final de 7.4 tras 35 días de maduración; del mismo modo, las características sensoriales del queso se vieron influenciadas desde los primeros días de maduración en los que se observaron cambios significativos en el color de las muestras. Kourkoutas *et al.*, (2006) utilizaron microorganismos de kéfir como cultivo adjunto para la elaboración de queso tipo Feta, el cual se almacenó a 4°C durante 70 días observando un comportamiento similar a la reportado por Mei *et al.*, (2015) donde, como se esperaba, el pH descendió y el ácido láctico aumentó conforme el tiempo de maduración transcurrió. Recientemente, Mantzourani *et al.*, (2018) emplearon microorganismos de kéfir como cultivo iniciador para elaborar queso tipo Feta, observando una reducción significativa en pH, alcanzando valores finales de esta propiedad en el rango de 2-4 de pH. Por otro lado, Goncu y AlpKent (2005) fabricaron queso blanco encurtido con microorganismos de kéfir como cultivo iniciador, el cual se mantuvo en maduración durante 120 días, evaluando cambios en pH, acidez y textura, donde la dureza disminuyó significativamente durante el periodo de evaluación del producto.

Dimitrellou *et al.*, (2010) utilizaron un cultivo de kéfir liofilizado para estudiar la proteólisis de un queso tipo feta y suero de queso, observando que los quesos con cultivos de kéfir presentaron un aumento en el contenido de nitrógeno soluble (como indicador de proteólisis) aumentó en ambos casos. Además, Katechaki *et al.*, (2008) reportaron que quesos inoculados con cultivos de kéfir aumentaron su vida de anaquel; además, se observó una disminución en la aceptabilidad del queso en los atributos de textura, sabor y aroma durante su almacenamiento. Posteriormente, Katechaki *et al.*, (2009) observaron que la temperatura influye considerablemente en los cambios de las propiedades del queso inoculado con microorganismos de kéfir; asimismo, al aumentar la concentración de inóculo se aceleraba la velocidad de acidificación. Por otro lado, Magalhaes *et al.*, (2010) elaboraron una bebida fermentada a partir del suero de queso utilizando como cultivo iniciador los gránulos locales de kéfir (Brasil) en las que se observó que a las 72 h de fermentación, la lactosa en leche y suero era mínima, debido a la degradación de la misma por los gránulos de kéfir, mientras que el desarrollo de etanol no presentó un cambio significativo; sin embargo, los autores reconocen que la estabilidad microbiana forma parte importante en su uso para este tipo de bebidas y su carácter probiótico. Por otro lado, Dimitrellou *et al.*, (2007) reportaron una interacción estrecha entre la adición del cultivo de kéfir y la maduración de un queso, así como el método de salado y la maduración; observándose cambios significativos cuando se ven modificados algunos de estos parámetros, generando una alteración en las tasas acidificación, en los valores de pH y en las propiedades sensoriales exhibidas por el producto.

1.4. Bacterias ácido-lácticas

1.4.1. Características

Las bacterias ácido-lácticas (BAL) son un grupo de microorganismos representado por varios géneros de características morfológicas, fisiológicas y metabólicas en común; son cocos y bacilos Gram positivos, no esporulados, no móviles, anaerobios y generan ácido láctico como producto de fermentación de carbohidratos. Las BAL son ácido-tolerantes, con un rango amplio de pH de crecimiento (3.2-9.6) y una mayor tasa de crecimiento en un rango de 4 a 4.5. La leche

es el medio más común para su desarrollo ya **que requieren de azúcares como: la glucosa y lactosa** para su multiplicación y desarrollo, por lo tanto, estos microorganismos son considerados para la elaboración y conservación de productos lácteos fermentados (Ramírez-López y Vélez-Ruiz, 2012).

1.4.2. Principales géneros de bacterias ácido lácticas

El grupo de BAL comprende 20 géneros diferentes aproximadamente, entre los cuales destacan como más representativos y de relevancia en alimentos los descritos a continuación.

- a) **Lactobacillus:** Morfológicamente, los lactobacilos pueden ser células largas o cortas, produciendo cadenas en formas de hilos o filamentos llamados ramificaciones. Son Gram positivas, tienen como límites de temperatura de crecimiento, de 20 a 53°C siendo la óptima entre 30 - 40°C. Estas bacterias pueden resistir mejor las condiciones de acidez que el resto de las bacterias ácido-lácticas y pueden crecer a valores de pH de 4 a 5 (Madigan *et al.*, 2004).
- b) **Streptococcus:** Está conformado por microorganismos de forma redondeada (cocos) con tendencia a formar cadenas o estar en pareja de menos de 2 µm de diámetro, son Gram positivas, anaerobias facultativas, formadoras de ácido láctico a partir de glucosa. El género *Streptococcus* contiene una amplia variedad de especies productoras de ácido láctico, las cuales juegan un papel importante en la producción de leches fermentadas (Montes y García-Arenzana, 2006).
- c) **Lactococcus:** Son cocos no esporulados, inmóviles, se pueden encontrar en parejas o cadenas cortas, anaerobios facultativos. Pueden encontrarse fácilmente en productos lácteos y leche cruda, dentro de este género se pueden mencionar cuatro especies: *L. garvieae*, *L. plantarum*, *L. raffinolactis*, *L. lactis* y, de esta último existen tres subespecies (*L. lactis* subesp. *Lactis*, *L. lactis* subesp. *cremoris* y *L. lactis* subesp. *hordniae*) (Mora-Peñaflor y García-Guerrero, 2007).

- d) **Leuconostoc**: Son cocos, Gram positivos, anaerobios facultativos; pueden ser alargados o con forma elíptica, conglomerados en parejas o cadenas, son utilizados de manera amplia en la industria láctea como cultivos iniciadores (Yang *et al.*, 2015).

Las BAL son ampliamente utilizadas en la industria alimenticia en procesos de fermentación como: cerveza, vinos, quesos y yogurt, entre otros; donde les proporcionan propiedades sensoriales y nutricionales. Algunas BAL cuentan con propiedades en las que pueden ser clasificadas como probióticos y así mismo como antimicrobianos, debido a las sustancias que estos generan a partir de la degradación de los azúcares fermentables, siendo en su mayoría cepas provenientes del género *Lactobacillus* (Sánchez *et al.*, 2011).

1.5. Queso

Se entiende por queso al producto blando, semiduro, duro y extra duro, madurado o no madurado, que puede estar recubierto de alguna membrana comestible o protectora, en el que la proporción entre las proteínas de suero y la caseína no sea superior a la de la leche, obtenido mediante la coagulación total o parcial de la proteína de la leche entera, descremada o parcialmente descremada estandarizada con crema y otros ingredientes lácteos o cualquier combinación entre los ingredientes citados, por acción del cuajo u otros coagulantes apropiados, y por escurrimiento parcial del suero que se desprende como consecuencia de dicha coagulación, respetando el principio de que la elaboración del queso resulta en una concentración de proteína láctea (especialmente la porción de caseína) y que por consiguiente, el contenido de proteína del queso deberá ser evidentemente más alto que el de la mezcla de los materiales lácteos ya mencionados en base a la cual se elaboró el queso (Codex Standard, 1978).

1.5.1. Clasificación de quesos

El queso se puede clasificar según diversos criterios; dentro de estos el más común es en quesos frescos o madurados, dependiendo de si el proceso excluye o

incluye un periodo de maduración. Los quesos frescos son aquellos que se encuentran listos para su consumo y a los que por lo regular no se les agrega ningún tipo de cultivo microbiano; mientras tanto, los madurados, además de que se emplean cultivos microbianos para su elaboración, se someten a un almacenamiento bajo condiciones controladas de temperatura (y en ocasiones de humedad relativa) durante un cierto tiempo para generar perfiles sensoriales característicos (textura, flavor). Conforme el tiempo de maduración aumenta, la concentración de agua disminuye, por lo cual la concentración de algunos nutrientes como grasa y proteína puede incrementarse inicialmente, aunque el efecto hidrolítico de enzimas nativas y exógenas que genera productos derivados de bajo peso molecular (ácidos grasos, aminoácido, aldehídos, cetonas y otros compuestos relevantes para el flavor y la textura final del queso) que pueden alterar su composición final (Ramírez-López y Vélez-Ruiz, 2012). Otros criterios adicionales para clasificar el queso incluyen el tipo de leche, el tratamiento previo que reciba, el proceso de elaboración y procedencia de la leche, la textura final del queso, el tiempo de maduración, entre otras.

El queso puede elaborarse a partir de leche cruda o de leche pasteurizada. En la primera, la fermentación láctica se realiza con las bacterias del entorno. Los quesos elaborados mediante este método no pueden consumirse antes de los dos meses para que este periodo de cuarentena permita la eliminación de microorganismos patógenos por competencia de las BAL. Por el contrario, los realizados a partir de leche pasteurizada se pueden consumir tras su elaboración o maduración, dado que este tratamiento térmico elimina todos los microorganismos patógenos de leche (Teubner *et al.*, 2002). Los quesos también pueden clasificarse según el tiempo de maduración en:

- *Frescos*, los cuales han sufrido una maduración de menos de una semana.
- *Ligeramente madurados*, cuyo período de maduración está entre 10 y 45 días.
- *Semi madurados*, entre 45 días y 3 meses de maduración.
- *Madurados* entre 3 y 7 meses de maduración.
- *Extra madurados*, madurados durante no menos de 7 meses y no más de un año.
- *Añejos*, que deben someterse a un período de maduración mayor a un año.

De acuerdo a la NOM-121-SSA1-1994 se consideran como madurados a aquellos quesos de pasta dura, semidura o blanda, con o sin corteza; sometidos a un proceso de maduración mediante la adición de microorganismos, bajo condiciones

controladas de tiempo, temperatura y humedad, para provocar en ellos cambios bioquímicos y físicos característicos del producto de que se trate, lo que le permite prolongar su vida de anaquel, los cuales pueden o no requerir condiciones de refrigeración.

1.6. Tipos de cultivos

1.6.1. Cultivos iniciadores

Un cultivo iniciador puede ser definido como una preparación microbiana que contiene alta concentración de células de por lo menos un tipo de microorganismo, el cual se añade a una materia prima alimenticia para producir un producto fermentado. Las BAL ocupan un papel central en estos procesos (Broome, 2003), ya que causan una rápida acidificación de la materia prima, producen ácidos orgánicos principalmente ácido láctico, y pueden mejorar la apariencia de los alimentos (Mendia *et al.*, 2000). Dentro de los criterios de selección del cultivo iniciador se incluyen principalmente su tasa de acidificación (que se espera sea rápida), temperatura de crecimiento y el tipo de propiedades sensoriales que le otorguen al producto.

Los cultivos iniciadores se clasifican en mesófilos y termófilos según la temperatura de crecimiento en la que se desarrollan. Así, los mesófilos tienen una temperatura ideal de incubación de 20- 25°C; en un periodo de 18 – 20 h, los mesófilos son capaces de incrementar la acidez titulable hasta 0.8% de ácido láctico. Por su parte, los termófilos requieren una temperatura de incubación en el rango de 40-45°C, generando una acidez final de 0.9% ácido láctico en un tiempo aproximado de 2 a 4 h. Una de las áreas de investigación más novedosas en el campo del desarrollo de cultivos iniciadores para la industria alimenticia está basada en la búsqueda de BAL autóctonas, presentes en una amplia gama de fuentes incluyendo productos lácteos artesanales y diversos productos de origen vegetal. La selección de BAL autóctonas para el desarrollo de cultivos iniciadores es un área promisoría para la industria alimenticia pues permite obtener productos novedosos con propiedades sensoriales y tecnológico-funcionales únicas; además, se ha demostrado que varias de estas BAL pueden prevenir la aparición de efectos secundarios indeseables del proceso fermentativo, tales

como la formación de ácido D-láctico y la formación de aminas biogénicas (Broome, 2003).

1.6.2. Cultivos adjuntos

Los quesos madurados o semi-madurados que poseen un sabor intenso la mayor parte se debe a que fueron elaborados con cultivos adjuntos, conformados por BAL no iniciadoras (NSLAB por sus siglas en inglés); el objetivo fundamental de este tipo de bacterias no es la generación de ácido láctico, sino su participación en la producción de compuestos de bajo peso molecular, que son relevantes para el desarrollo de características sensoriales distintivas, particularmente de textura y *flavor*. Para la selección de los adjuntos para la elaboración de quesos madurados se debe de considerar la competitividad entre las bacterias iniciadoras y NSLAB y el tipo de contaminantes presentes en el queso. Las propiedades que le confieren al queso en términos de *flavor* y textura pueden ser positivas, neutras o negativas dependiendo de las cepas predominantes durante la maduración (Mendia *et al.*, 2000).

1.7. Textura de quesos

Sensorialmente, la palabra textura se emplea para definir la sensación táctil que nos produce la estructura o la disposición de los componentes de un alimento al introducirse a la boca y masticarse, generando deformación, desintegración y flujo del producto. Por ello, tradicionalmente la evaluación de textura en alimentos se realiza mediante la aplicación de métodos sensoriales descriptivos empleando un panel adecuadamente entrenado. Ante las dificultades que esto implica, se han desarrollado diferentes métodos instrumentales que permiten aproximar las mediciones de textura sensorial utilizando máquinas universales conocidas genéricamente como texturómetros. Aunque los texturómetros modernos tienen precargados numerosos métodos de medición de propiedades texturales, en la actualidad, el método instrumental más utilizado para la medición de textura en alimentos sólidos como los quesos es el análisis del perfil de textura (TPA), que imita las condiciones a que se somete el material durante el proceso de masticación (Torres-González *et al.*, 2015).

La textura de un queso se encuentra determinada por el método de manufactura empleado, la calidad y composición de la leche utilizada para su elaboración, el tipo de método de coagulación y, si es enzimático, el tipo de coagulante, la composición final del queso y si, el producto es añejado, las condiciones establecidas de maduración (Lucey *et al.*, 2003). El TPA permite obtener mediciones objetivas y reproducibles de los parámetros de textura en quesos.

1.7.1. Análisis del Perfil de Textura (TPA)

El análisis de perfil de textura (TPA) es una prueba instrumental basada en una doble compresión de una muestra sólida a través de una sonda cilíndrica plana; los dos ciclos de compresión están separados por un cierto rango de tiempo donde se permite a la muestra recuperarse de la fuerza ejercida, es decir, se permite que haya un periodo de descompresión; a partir de esta prueba se generan curvas de fuerza-distancia o fuerza-tiempo mismas que registran los eventos característicos espaciales o temporales de las muestras sometidas a este esfuerzo las cuales simulan aquel realizado por la mandíbula al morder, conociendo así la fuerza necesaria a aplicar para generar un daño o una diferencia en la estructura de la muestra (Torres-González *et al.*, 2015). Las curvas típicas obtenidas a partir de esta prueba se muestran en la Figura 2.

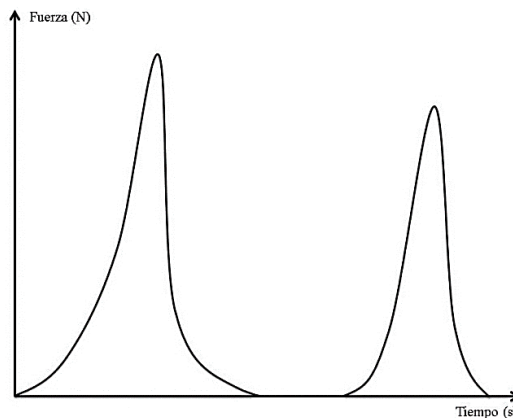


Figura 2. Curva típica de TPA (Torres-González *et al.*, 2015).

Debido a que se simula la masticación y el movimiento de la mandíbula, este tipo de análisis se considera destructivo; a partir de las curvas de fuerza-deformación

es posible determinar parámetros mecánicos primarios, secundarios y terciarios (Chen y Opara, 2013).

1.7.2. Parámetros evaluados en un TPA

La Figura 3 muestra los parámetros típicos obtenidos a partir de una curva característica de TPA. Aquellos de mayor significancia para la evaluación de textura en quesos se describen a continuación.

- **Dureza:** fuerza máxima requerida para comprimir la muestra, generalmente calculada en el primer ciclo de compresión.
- **Elasticidad:** se interpreta como la capacidad de una muestra para recuperar su forma original después que se retira la fuerza de deformación; se calcula como la razón entre las distancias para alcanzar la fuerza máxima de compresión a partir del inicio de cada ciclo, dividiendo la distancia del segundo entre la del primer ciclo.
- **Cohesividad;** es la medida en que la muestra podría deformarse antes de la ruptura y se calcula como la razón entre las áreas bajo las curvas de compresión del segundo ciclo entre aquella del primero.
- **Adhesividad:** se define como el área negativa total entre el primer y el segundo pico.
- **Gomosidad:** se define como la fuerza necesaria para desintegrar una muestra semisólida a un estado estable de deglución y se calcula como el producto de la cohesividad de dureza, por lo que es un parámetro secundario. Como la mayor parte de quesos sólidos, no semisólidos, la gomosidad carece de significancia para estos productos.
- **Masticabilidad:** es el trabajo necesario para masticar una muestra sólida a un estado constante de deglución; este parámetro terciario se calcula como el producto de dureza, cohesividad y elasticidad (Chen y Opara, 2013).

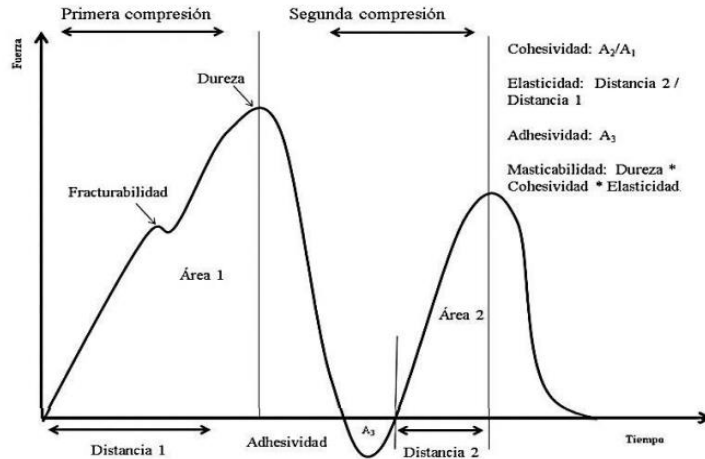


Figura 3. Grafica de interpretación de TPA. Fuente: Chen y Opara, (2013).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Plan de investigación

De acuerdo a los objetivos descritos, se planteó el siguiente plan de investigación, dividido en tres etapas. En la Figura 4 se presenta un resumen gráfico, el cual se describe detalladamente a continuación.

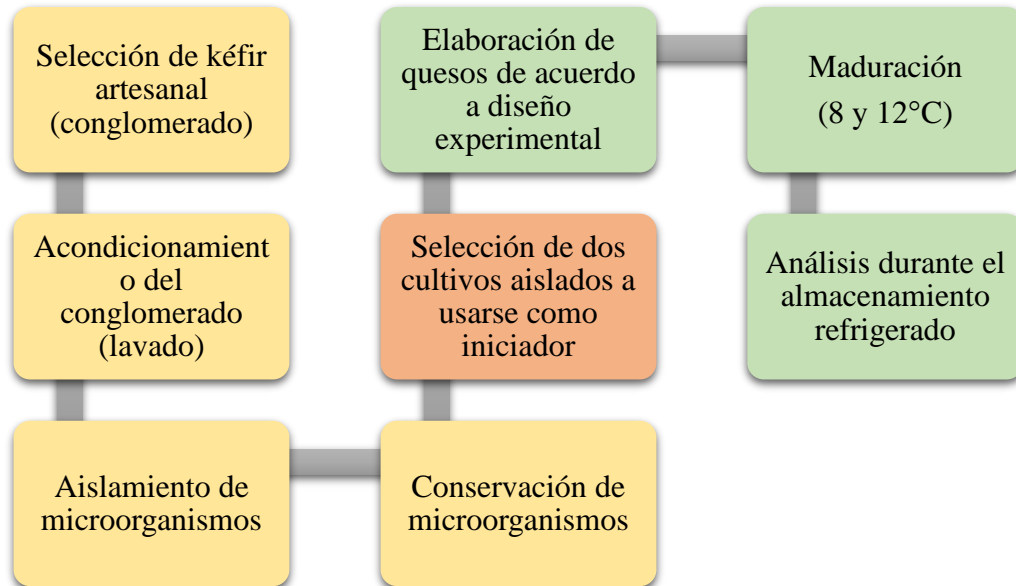


Figura 4. Diseño del plan de trabajo para la elaboración de queso madurado, adicionado con cultivo aislado de kéfir.

En la Etapa 1 (recuadros color amarillo en la Figura 4) se planteó realizar el aislamiento y conservación de BAL presentes en un consorcio de kéfir artesanal proveniente de Huamantla, Tlaxcala; posteriormente, en la Etapa 2 (recuadro rojo en la misma Figura), de acuerdo a los datos obtenidos de cinética y pH se seleccionaron dos de los microorganismos aislados de kéfir y fueron identificados (género y especie microbiana) empleando técnicas de biología molecular. Finalmente, en la Etapa 3, se elaboraron quesos madurados con leche bovina empleando diferentes combinaciones de bacterias ácido-lácticas como cultivo iniciador o adjunto a un cultivo iniciador comercial, determinando parámetros fisicoquímicos instrumentales (perfil de textura, color triestímulo, pH) y cuentas de microorganismos indicadores para evaluar la calidad de los quesos elaborados.

2.2. Materiales

La leche empleada fue adquirida de un proveedor local ubicado en el municipio Javier Mina, Puebla, México, a la cual se le determinó la composición químico-proximal mediante un analizador rápido ultrasónico Lactoscan LA (Nova Zaragoza, Bulgaria); se cuantificó el contenido de grasa, proteína, sólidos no grasos, lactosa, agua y cenizas, se tomaron valores promedio a partir de mediciones realizadas por triplicado. Posterior al análisis composicional la leche fue estandarizada a 3% de grasa; la estandarización se realizó descremando una cantidad determinada de leche cruda (aprox. 20% del total a procesar en el día de trabajo) con una descremadora eléctrica de pequeña capacidad (LKL, Bulgaria, Europa) y mezclando leche entera con leche descremada hasta alcanzar el porcentaje de grasa deseado; posteriormente la leche fue sometida a una pasteurización lenta en una pasteurizadora por lotes (Milky, Alemania) a 63°C por 30 min.

Los cultivos microbianos utilizados fueron uno artesanal y uno comercial; el cultivo liofilizado *Streptococcus thermophilus* STI-14® (Chr.Hansen® Hoersholm, Dinamarca) como cultivo iniciador; este cultivo (NCC 2496) fue almacenado a -4°C hasta su uso; asimismo, se utilizó un consorcio de kéfir artesanal proveniente de la zona sur del municipio de Huamantla, Tlaxcala. El cultivo se mantuvo en refrigeración

(4°C) en un recipiente limpio con leche parcialmente descremada (2% grasa) ultrapasteurizada LALA® hasta ser empleado. Del mismo modo, se utilizó un cuajo enzimático de doble fuerza CHY-MAX® PLUS (Chr. Hansen® Hoersholm, Dinamarca), el cual consiste de quimosina producida por fermentación empleando un organismo genéticamente modificado.

2.3. Metodología

2.3.1. Acondicionamiento del cultivo artesanal

El kéfir artesanal empleado fue recibido como un conglomerado típico, con una presentación nodular característica, el cual se lavó con agua destilada a una temperatura de 27°C. Se colocaron 10 g del conglomerado en 90 mL de agua destilada, el cual se agitó y posteriormente se filtró por decantación; el lavado se repitió 3 veces. Posteriormente, se conservó en un frasco estéril en refrigeración a una temperatura aproximada de 4°C, hasta su uso.

2.3.2 Separación de cultivos

El conglomerado lavado se pesó y se inició la separación de los microorganismos que conformaban el consorcio de kéfir. Para ello, se agregaron 5 g del consorcio en agua peptonada para favorecer el crecimiento de los microorganismos; una vez transcurridas 24 h, se recolectó 1 mL del agua peptonada y se colocó en 50 mL de caldo MRS. (Man, Rogosa y Sharpe) (MCD-LAB, Tlalnepantla, México). Tras verificar que se observaba crecimiento microbiano en el medio por aumento visual de turbidez, se realizaron siembras en cajas Petri con Agar MRS, mediante la técnica de vertido en placa, las cajas se mantuvieron en incubación durante 24 h en un ambiente anaerobio a 37 °C.

2.3.3 Caracterización preliminar de microorganismos

Transcurrido el tiempo de incubación se retiraron las cajas de la incubadora y se seleccionó una colonia para realizar una tinción de Gram y así observar su morfología

a través de un microscopio óptico convencional para garantizar que se trataba de una bacteria ácido láctica. Una vez que se verificó la morfología macro y microscópica esperada, se aisló nuevamente en una caja Petri con agar MRS mediante la técnica de estria cruzada y se incubó a las condiciones previamente mencionadas. Después de 24 h de crecimiento, se tomó una colonia de la parte más aislada de la caja y se inoculó en un caldo MRS estéril, el caldo se incubó a 37 °C por 24 h y así poder obtener la biomasa necesaria para realizar un estudio de caracterización por PCR (ver siguiente apartado). Para la obtención de biomasa concentrada, se colocó el caldo MRS en tubos Falcon, los cuales se centrifugaron a 4000 rpm durante 10 min a temperatura ambiente en una centrifuga 320R (Hettich, Tuttlingen, Alemania); posteriormente, se transfirió 1 mL de la biomasa dentro de tubos Eppendorf estériles y se le adicionaron 0.5 mL de glicerol al 20%. Los tubos se mantuvieron en congelación a -10°C.

2.3.4 Aislamiento, identificación y selección de microorganismos de kéfir

Los microorganismos aislados se seleccionaron aquellos que cumplieron tres criterios: que su ocurrencia fuera común dentro de los sistemas de kéfir reportados en la bibliografía (ver sección de revisión bibliográfica), aquellas que fueran capaces de sobrevivir en un medio acuoso salino con 1-3% de NaCl y las que presentarían crecimiento óptimo en leche (Goncu y AlpKent, 2005). Las técnicas implementadas se describen a continuación.

2.3.4.1 Resistencia a un medio salino

Para el estudio del desarrollo de los microorganismos en un medio salino, se incorporaron los microorganismos a caldo MRS adicionado con 1%, 2% y 3% de NaCl, el caldo se mantuvo en incubación a 37°C durante 24 h. Al finalizar el tiempo de incubación, se evaluó la presencia de turbidez del medio como respuesta al crecimiento de los microorganismos, indicando la resistencia en un medio salino de acuerdo al método propuesto por Whitley (2002).

2.3.4.2 Cinética de crecimiento en leche

El proceso de crecimiento en leche fue evaluado cada 4 h durante 24 h hasta obtener observar cargas microbianas altas, en particular en el rango de 1×10^8 a 1×10^{10} UFC/mL.

Se inoculó 100 mL de leche estéril estandarizada al 3% de grasa, con 1 mL de la cepa previamente conservada, la leche se incubó a 37°C y se evaluó su comportamiento microbiano.

La siembra de BAL se realizó mediante el método estándar de Miles y Misra; previamente se realizaron las diluciones necesarias (Figura 5), se emplearon cajas Petri conteniendo agar MRS, las cajas fueron marcadas en 4 cuadrantes, en cada cuadrante se depositan 10 μL de muestra (Figura 5), se dejó que él inóculo se absorbiera en el medio y finalmente las cajas fueron incubadas en condiciones anaerobias a 37°C por 24 h.

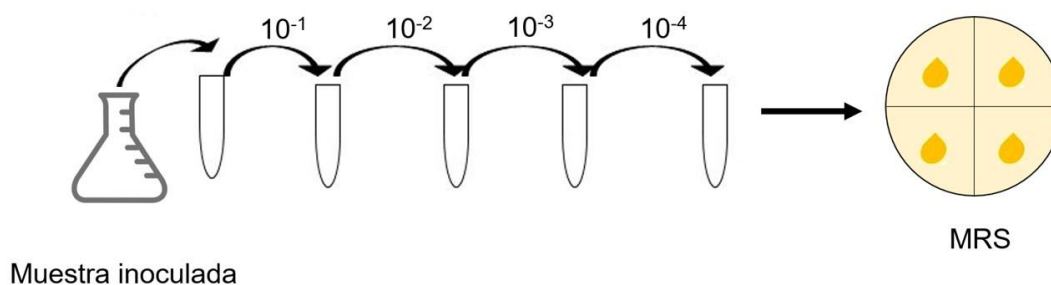


Figura 5. Método de siembra de Miles y Misra

Aquellos microorganismos capaces de obtener una población alta en un periodo de 24 h, en medios salinos y que formaran parte común del consorcio de kéfir de acuerdo a reportes previos se sometieron a pruebas de identificación por técnicas de biología molecular.

2.3.5 Técnica de PCR

La identificación de las BAL para emplearse como inóculos de quesería se hizo mediante la técnica de reacción en cadena de polimerasa (PCR), la prueba fue realizada por personal del laboratorio de Biotecnología de la Universidad Politécnica de Puebla. Esta se llevó a cabo usando cepas inoculadas en caldo MRS a 37°C por 16-24 h; con el objetivo de concentrar la biomasa celular, éstas se centrifugaron (Velab, TGL-160, México) a 10,000 rpm por 1 min. La extracción del ADN se realizó empleando el método CTAB (bromuro de cetil trimetil amonio, por sus siglas en inglés) reportado por Doyle y Doyle (1987). Se utilizaron 200 mg (base húmeda) de biomasa de células de bacterianas y se adicionaron a un tubo con solución amortiguadora de extracción CTAB. La biomasa bacteriana se homogeneizó y se mantuvo en incubación a 70°C en un baño termizado (SEV-CM-10, Puebla, México) por espacio de 60 min. La separación de los residuos de la membrana celular se realizó añadiendo 200 µL de una mezcla de solventes (cloroformo-alcohol isoamílico) en proporción 24:1; a continuación, se centrifugó nuevamente (10,000 rpm, 1 min) y se transfirieron 650 µL del sobrenadante (fase acuosa superior) a un segundo tubo. Al sobrenadante se le adicionaron 600 µL de isopropanol y se dejó reposar por 24 h a -20° C, transcurrido el tiempo se realizaron lavados sucesivos con etanol al 70%, finalmente se obtuvo la pastilla de ADN por centrifugación (10,000 rpm, 1 min); el ADN se suspendió nuevamente en 100 µL de agua libre de nucleasas (Promega, Madison, WI, EUA). El ADN obtenido se visualizó mediante una electroforesis en gel de agarosa al 0.8% p/v; se emplearon 5 µL de cada una de las muestras de ADN aplicando una corriente eléctrica de 70 V por 60 min. Posteriormente, se realizaron 4 reacciones en cadena de polimerasa (PCR) para cada bacteria ácido-láctica, se utilizaron 4 primers iniciadores diferentes específicos (Tabla 3). La PCR se desarrolló utilizando en cada tubo de reacción; 1 µL de cada iniciador (2, 3, 4, 5) a una concentración de 10 µM, 10 µL del buffer de reacción, 0.4 µL de DNA polimerasa (Promega, Madison, WI), 3.5 µL de MgCl₂ (1.5 µM) y 3 µL de ADN, obteniendo un volumen final de 25 µL.

La mezcla de la reacción se procesó en un termociclador (Bio-Rad, My-Cycler, EUA) bajo el siguiente programa: 94° C durante 1 min para la desnaturalización, 55° C durante 30 s para la hibridación, y 72°C por 40 s para la extensión, repitiendo esto

durante 40 ciclos. La integridad y el peso molecular de los fragmentos obtenidos de la amplificación fueron verificados por su migración electroforética en un gel de agarosa al 2% p/v. La especificidad, el tamaño del fragmento amplificado y la región o gen amplificados para la identificación microbiana, así como las referencias respectivas, se muestran en la Tabla 3.

La secuenciación se llevó a cabo en la Unidad de Servicios Genómicos de Irapuato, Guanajuato, México; éstas secuencias fueron comparadas con las publicadas en la base de datos del National Center for Biotechnology Information, GenBank, utilizando alineamientos locales mediante el programa BLASTn y tomando en cuenta solamente aquellas secuencias con un porcentaje de similitud mayor o igual al 88%.

Tabla 3. Especificidad, tamaño del fragmento amplificado y región o gen amplificado.

PRIMER	Especificidad Género/especie	Tamaño del producto*	Gen o región amplificado	Referencia
L9F L10R	<i>Lactobacillus casei</i> , <i>L. paracasei</i> y <i>L. rhamnosus</i>	218 pb	Gen ARN ribosomal 16S	Markiewicz y Biedrzycka, 2005
L7F L8R	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	575 pb	Gen ARN ribosomal 16S	Sul <i>et al.</i> , 2007
L5F L6R	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	475 pb	Gen Hsp60 Cpn60	Ramachandran <i>et al.</i> , 2013
L1F L2R	Género <i>Lactobacillus</i>	232 pb	Gen ARN ribosomal 16S	Caufield <i>et al.</i> , 2007

*pb: pares de bases

2.3.6 Cinética de pH y acidez

La evaluación de la capacidad acidificante de las bacterias identificadas se describe a continuación. Para evaluar la capacidad acidificante de las bacterias aisladas e identificadas se prepararon tres tipos de sistemas empleando leche pasteurizada comercial inoculada de tres formas diferentes: con la bacteria aislada 1 (BAL 1), con la

bacteria aislada 2 (BAL 2) o con una mezcla 1:1 de ambas bacterias, para verificar si presentaban crecimiento sinérgico. En todos los casos, los microorganismos se adicionaron en una proporción de 1% (p/v). La cinética de crecimiento microbiano se evaluó a dos temperaturas de crecimiento: 37°C y 43°C; cada 30 min se midió el pH y acidez durante un periodo de 5 h. La cinética de pH se realizó con 100 mL de leche inoculada con 1 mL de cada cepa seleccionada en las diferentes combinaciones y temperaturas de fermentación, para poder seleccionar aquella cepa con mejor perfil de reducción de pH. Por su parte, para la evaluación de la capacidad de acidificación de las cepas seleccionadas, las mediciones se realizaron con una diferencia de tiempo de 2 min hasta observar una disminución de 0.02% en la acidez titulable inicial de la muestra.

La determinación de acidez se realizó de acuerdo al método 16.023 AOAC (2000) que consistió en una titulación con NaOH (0.1 N); la acidez se expresó como porcentaje de ácido láctico y este se determinó por medio de la Ecuación 1. Del mismo modo se siguió la metodología mencionada con anterioridad para la verificación de la reducción de la acidez de la leche durante la elaboración de los quesos.

$$\% \text{ Ácido láctico} = \frac{V_1 * N * M_{eq}}{V_2} * 100 \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde:

V_1 = Volumen de NaOH gastado (mL)
 N = Normalidad de NaOH
 M_{eq} = Mili equivalentes de ácido láctico
 V_2 = Volumen utilizado de muestra

2.3.7 Evaluación de crecimiento empleando tasas de adición controladas

Se trabajó con la cepa comercial liofilizada de *Streptococcus thermophilus*. Lo primero que se realizó fue determinar su población inicial, para poder usarla como referencia y estandarizar las cepas aisladas del consorcio de kéfir, a las mismas tasas poblacionales.

Para obtener una población microbiana predefinida en las cepas, se inocularon los microorganismos seleccionados en caldo M17, el medio se incubó a 37°C por 24 h para determinar el crecimiento de las cepas mencionadas anteriormente se realizó la siembra como se describió en el apartado 2.3.4.2

2.3.8 Elaboración de queso

Para la elaboración del queso, la leche fue pasteurizada a 63°C durante 30 min y posteriormente enfriada a 37°C, para ser inoculada con diferentes tipos de cultivos en, combinaciones diferentes; se utilizaron dos cultivos de BAL del consorcio de kéfir seleccionados de acuerdo a los criterios mencionados anteriormente, los cultivos se emplearon como iniciadores o como adjuntos a la cepa del cultivo comercial liofilizado de *S. thermophilus* de acuerdo a las combinaciones indicadas en la Tabla 4. Las proporciones en las que se añadieron los cultivos de las tres cepas, fueron de 10⁸ UFC/mL, añadiéndose en una razón de 1:1 para tener cuentas microbiológicas iniciales iguales y para que no se vieran sesgados los resultados por diferencias en la concentración de uno u otro cultivo.

Tabla 4. Combinación de microorganismos para la elaboración de queso madurado.

Queso	<i>S. thermophilus</i> comercial	BAL 1	BAL 2
1	X	X	
2	X		X
3	X	X	X
4		X	X
5	X		

Posteriormente, se le adicionó a la leche el cuajo según las especificaciones del proveedor y se dejó que la leche cuajara aproximadamente durante 30 min, a continuación se realizó el proceso de cortado a la cuajada con liras para poder desuerar el producto de una manera más eficiente, la pasta resultante se colocó en mantas de cielo previamente lavadas y desinfectadas con una solución de cloro al 5 %, una vez

que se eliminó el suero se colocó la pasta dentro de prensas de acero inoxidable previamente aseadas y desinfectadas para compactar y terminar de desuerar el queso por un periodo de 24 h aproximadamente. Una vez transcurridas las 24 h del prensado, el queso fue sumergido en una solución acuosa de cloruro de sodio al 3 %, donde permaneció por espacio de 24 h. Finalmente, el queso fue secado y empacado en bolsas plásticas y sellado al vacío (Figura 6). Los quesos fueron madurados en una cámara de maduración a una temperatura de 8 y 12 °C durante un periodo de 14 días, cada 7 días se tomó un queso y se analizó. Todos los quesos se elaboraron por duplicado.

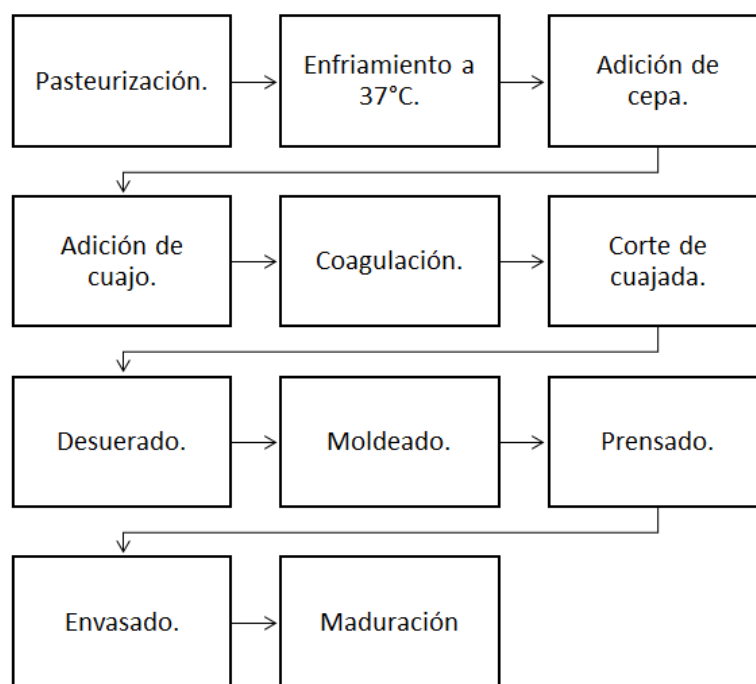


Figura. 6. Procedimiento de elaboración de quesos madurados

2.3.9 Caracterización de quesos

2.3.9.1 Análisis de perfil de textura

El análisis de perfil de textura (TPA) fue realizado con un texturómetro Texture Technologies, TAXT-Plus (Surrey, Reino Unido) utilizando cilindros de queso de 15 mm de diámetro y 25 mm de alto aproximadamente. Las muestras fueron colocadas en la base todo propósito del texturómetro y comprimidas dos veces con una sonda de 25 mm a 1 mm/s hasta un 50 % de su altura original. Las propiedades mecánicas del

producto como dureza, cohesividad, elasticidad y masticabilidad fueron calculadas a partir de los gráficos de la doble compresión, como se describió anteriormente.

2.3.9.2 Color

Para la determinación de color instrumental de queso, las muestras fueron analizadas en un colorímetro triestímulo Hunterlab, Colorflex EZ (Virginia, E.U.A.), colocándolas directamente sobre el lente de medición del equipo y utilizando parámetros en el espacio de color CIELAB, donde L^* indica luminosidad (100 a 0), a^* tonalidad del rojo(+) al verde(-) y b^* tonalidad de amarillo(+) a azul (-) (Rynne *et al.*, 2008). Para la estandarización del equipo se utilizó un plato blanco con los siguientes valores: $L^*=93.51$; $a^*=-1.02$; $b^*=1.36$.

El ángulo hue (h^*) fue calculado utilizando la siguiente relación:

$$h^* = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (\text{Ec. 2})$$

El índice de saturación (croma, C^*) se calculó con la siguiente ecuación:

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (\text{Ec. 3})$$

2.3.9.3 Cuento de microorganismos indicadores en queso

Se realizó la identificación de microorganismos indicadores de la calidad en los quesos, se determinó la presencia de coliformes totales (CT), hongos y levaduras (HyL), bacterias mesófilas aeróbicas (BMA) y BAL; se tomó 1 g de cada queso y se colocó dentro de un tubo Falcón con 9 mL de agua peptonada, se agitó con un vórtex para generar una desintegración de la muestra, posteriormente se realizaron las diluciones correspondientes y se utilizó la técnica de vertido en caja Petri empleando el medio de cultivo específico para cada grupo de microorganismos. Para BMA se utilizó agar cuenta estándar, para CT se empleó agar rojo bilis brillante lactosado, para HyL se utilizó agar papa dextrosa acidificado. Fueron incubadas a 37°C durante 24 h, mientras que para HyL se incubaron a temperatura ambiente durante 72 h.

2.3.9.4 Diseño de experimentos y Análisis estadístico

Para la evaluación de las cinéticas de acidificación y reducción de pH se implementó un diseño completamente aleatorizado con dos factores: temperatura (con 2 niveles, 37 y 43°C) y tipo de inóculo (con tres niveles: BAL 1, BAL 2 y mezcla 1:1 de BAL 1 y BAL 2). Las variables dependientes fueron las tasas de cambio en pH y acidez titulable. Por su parte, para la elaboración de quesos con las bacterias aisladas de kéfir, el cultivo comercial y combinaciones entre estos, se utilizó un diseño en bloques completamente aleatorizado, evaluando el tipo de inóculo (5 niveles, ver Tabla 4) y el tiempo de maduración (3 niveles: 0, 7 y 14 días), empleando la temperatura de maduración como variable de bloque. En todas las pruebas descritas, las determinaciones fueron realizadas por triplicado. Los datos fueron analizados mediante el software de MINITAB 16, Minitab, LLC (State College, Pennsylvania, EE. UU.), de se realizó un Modelo lineal general y pruebas de comparación de Tukey con nivel de confianza del $\alpha = 0.05$.

3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1. Identificación de microorganismos en consorcio de kéfir artesanal

En las pruebas preliminares, se aislaron diversos tipos de microorganismos del consorcio de kéfir comercial; sin embargo, la mayor parte de ellos resultaron ser incapaces de crecer en medios salinos (1-3% NaCl sal) o no crecían las poblaciones en rangos que permitieran su uso como inóculo para quesería (10^{10} UFC/mL) (datos no mostrados). Otros microorganismos que se presentaron en el consorcio de kéfir, fueron las levaduras, las cuales resultaron difíciles de aislar. Sin embargo, dos microorganismos aislados cumplieron con todos los criterios fijados, resistiendo condiciones salinas mayores al 2% y creciendo hasta concentraciones microbianas mayores a 10^9 UFC/mL. Por ello, se decidió trabajar con ellas a partir de este punto. Las pruebas de identificación de microorganismos mostraron que las secuencias de ADN de las dos BAL del kéfir de Huamantla, Tlaxcala correspondían a *Lactobacillus* sp con un porcentaje de cobertura del 90 a 93% de identidad. La técnica de PCR utilizada se fundamenta en la reacción enzimática que amplifica una secuencia específica de ADN millones de veces durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia del blanco es copiada fielmente; para ello, la reacción aprovecha la actividad de la enzima ADN polimerasa que tiene la capacidad de sintetizar naturalmente el ADN en las células (Tamay *et al.*, 2013). En la Figura 7 se presentan los fragmentos secuenciados de las cepas identificadas.

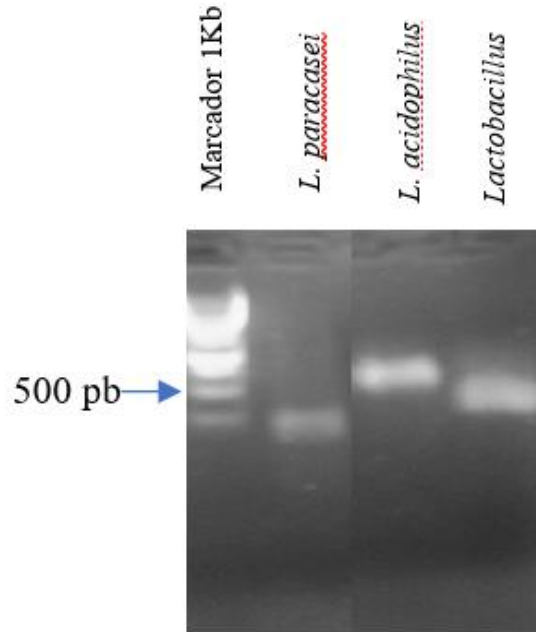


Figura 7. Identificación de bacterias ácido lácticas en gel de electroforesis de agarosa al 2% (500 pb= marcador de 500 pares de bases)

En el carril 1 se presenta el marcador de referencia de peso molecular 1 kb de pares de bases (pb); cada banda tiene una separación de 250 pb con respecto a la siguiente. En el carril 2, se observa el producto positivo para *Lactobacillus paracasei*. En el carril 3 se observa un PCR positivo para *Lactobacillus acidophilus* y finalmente en el carril 4, se presenta un PCR positivo para el género *Lactobacillus*. En la Tabla 5 se presentan el primer utilizado, la especificidad (género y especie) y el tamaño del producto de las cepas identificadas.

Tabla 5. Especificidad, tamaño del fragmento amplificado y región o gen amplificado.

Primer	Especificidad Género/especie	Tamaño del producto (pb)	Gen o región que amplifican
L9 y L10	<i>L. paracasei</i>	218	Gen ARN ribosomal 16S
L5 y L6	<i>L. acidophilus</i>	475	Gen Hsp60/ Cpn60

Habiendo identificado a las dos bacterias ácido lácticas aisladas del cultivo de kéfir artesanal, éstas se codificaron como BAL1 (*L. paracasei*) y BAL2 (*L. acidophilus*) y posteriormente se emplearon como inóculo en las etapas subsecuentes del proyecto.

3.2 Curvas de acidificación de microorganismos

La evaluación de pH y % acidez por parte de las bacterias BAL 1 y 2, así como de su mezcla se realizó a dos temperaturas (37 y 43°C), los resultados mostraron que ninguna de las BAL presentó un cambio de pH y acidez en la leche a 43°C, por lo que este parámetro de prueba se descartó en este estudio. En la Figura 8 se presenta la cinética de pH y acidez de BAL aisladas de kéfir (Fig. 8A y 8C), también se presenta el cambio de pH del cultivo comercial (Fig. 8B), este último fue obtenido por referencia del proveedor del cultivo comercial. Se observó con respecto al pH, que existió un mayor descenso de este parámetro al utilizar BAL de kéfir en comparación con la BAL comercial, además la disminución del pH se realizó en menos de 60 min en comparación con la cepa comercial, la cual para generar un descenso de 1.2 unidades, requiere de un tiempo aproximado de 5h. Por otra parte, se observó que tanto *L. acidophilus* como la mezcla con *L. paracasei* se favorece la disminución del pH. Se ha reportado que el uso en conjunto de dos o más cultivos iniciadores es una práctica común entre los productores de lácteos fermentados, debido al comportamiento sinérgico que pueden exhibir; en ocasiones, como en la elaboración de yogurt, uno de ellos crece primero y al producir ácido láctico, hace el medio más propicio para el desarrollo del segundo (Walstra *et al.*, 2006). Kalavrouzioti *et al.* (2005) reportan que el uso de cultivos probióticos *L. rhamnosus* o *L. paracasei* en queso tipo Kefalotyri permite disminuir el pH durante la primera etapa de maduración, lo cual concuerda con lo observado en este trabajo. Aunque cabe mencionar que hay una mayor disminución de pH al emplear *L. acidophilus* y no *L. paracasei*.

La sinergia entre cultivos añadidos simultáneamente en términos de reducción de pH, tiene correspondencia con el incremento en la acidez titulable, la cual fue mayor para el sistema donde se añadieron las cepas de manera simultánea, potencializando la

velocidad con la que éstas acidificaron el medio, en comparación con su comportamiento de manera individual. La mezcla de BAL generó un mayor valor en la acidez (0.45%) durante los primeros 30 min, que corresponde al valor de 0.02% de acidez que se buscaba. Sin embargo, a pesar de que *L. paracasei* no presentó cambios en el valor de pH, generó cambio en el % de acidez (0.2%) en un tiempo de 20 min. En términos generales, todas las BAL evaluadas presentaron un incremento en el % de acidez mínimo, requerido para la maduración de leche y la producción de queso.

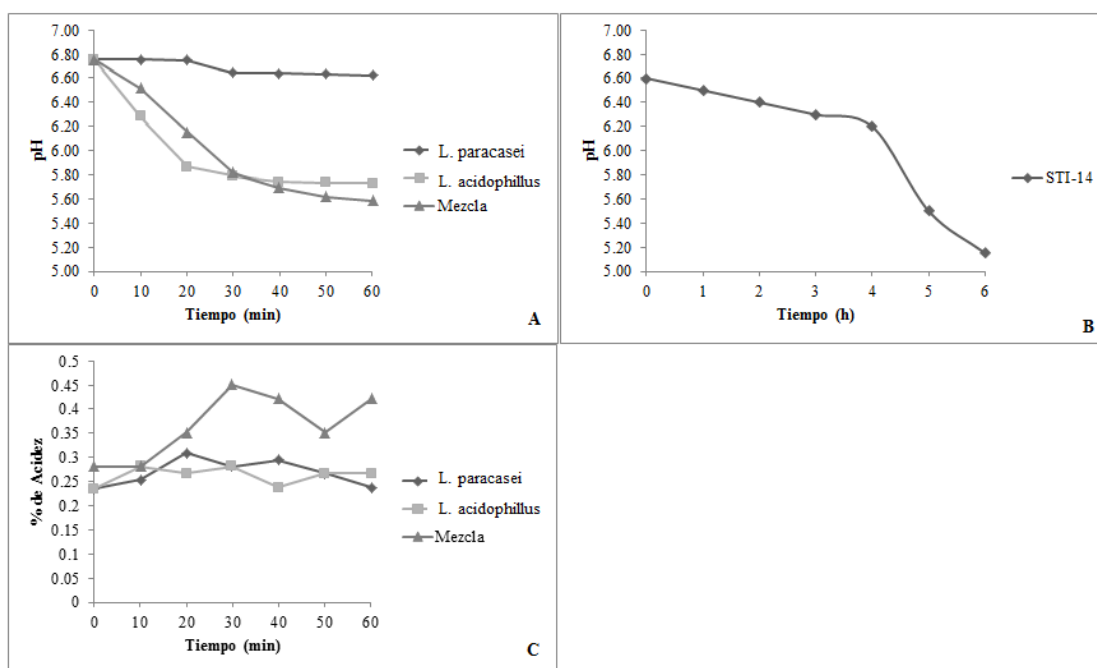


Figura 8. Curvas de acidificación y pH de microorganismos aislados de kéfir comparados con un cultivo comercial
A. pH **B.** Cambio de pH con cultivo de *S. thermophilus* comercial. **C.** Acidez titulable

3.3 Composición de leche para quesería

La composición de la leche entera y estandarizada empleada en este trabajo se presenta en la Tabla 6; en esta se observa la distribución de los componentes mayoritarios (agua y sólidos no grasos) de la leche; la composición promedio se encuentra dentro de los rangos reportados por Walstra *et al.*, (2006) quienes mencionan que la leche bovina debe contener de 85.3 a 88.7% de agua y de 7.9 a 10% de sólidos no grasos. Por otro parte, la leche se ajustó al 3.0% de grasa para obtener leche

estandarizada para producción de queso, con el consecuente ligero aumento en el contenido de agua y una disminución de los sólidos no grasos (proteína, lactosa y cenizas), parámetros que se deben al ajuste de sólidos grasos en la leche. La estandarización de grasa en productos lácteos es una etapa que permite obtener productos uniformes en apariencia y, evidentemente, en composición, y en productos fermentados contribuye a la consistencia final y al desarrollo adecuado de características funcionales y sensoriales (Revilla, 1982).

Tabla 6. Composición de leche bovina entera y estandarizada

Componente	Leche entera	Leche estandarizada
Agua	88.02 ± 1.02	89.27 ± 0.08
Proteína	2.48 ± 0.04	2.42 ± 0.07
Grasa	4.13 ± 0.16	3.06 ± 0.03
Lactosa	4.54 ± 0.26	4.45 ± 0.12
Sólidos	0.62 ± 0.06	0.58 ± 0.02

3.4 Caracterización de queso fresco

Se elaboraron 30 quesos los cuales fueron divididos en 2 lotes, para ser sometidos al proceso de maduración a 8 y 12°C; cada 7 días se realizó su caracterización en términos texturales, colorimétricos, y otros parámetros fisicoquímicos.

3.5 Análisis de perfil de textura

La textura es un factor importante en la selección y preferencia de alimentos, y en productos selectos se le considera como el mayor atributo de calidad por encima de la apariencia, el sabor, el olor e incluso la composición nutricional (Bergamini *et al.*, 2005). En el caso de los quesos, la textura representa un elemento esencial para su caracterización y cualquier evaluación de viabilidad del uso de un cultivo alterno para emplearse como inóculo para la elaboración de quesos demanda determinar su influencia sobre los atributos texturales del producto, desde el primer momento

después del prensado y a lo largo del proceso de maduración. Para la caracterización de quesos se realizó el análisis de perfil de textura antes descrito, proceso que simula la masticación y del cual se obtienen parámetros diversos, mismos que se describen a continuación de manera individual. El análisis estadístico de los resultados del análisis de perfil de textura de los quesos durante 14 días de maduración a dos temperaturas diferentes (8°C y 12°C) se presentan en las Tablas 7 y 8.

Tabla 7. Cambios texturales de quesos elaborados con bacterias ácido lácticas aisladas de kéfir durante maduración a 8°C

Queso	Tiempo (d)	Dureza	Elasticidad	Cohesividad	Masticabilidad	Resiliencia
1	0	1901.2 ± 147.7 ^{Aa}	0.8 ± 0.01 ^{ABa}	0.7 ± 0.08 ^{Aa}	1029.0 ± 101.0 ^{Aa}	0.4 ± 0.02 ^{Aa}
	7	505.9 ± 54.4 ^{Bb}	0.8 ± 0.01 ^{Aa}	0.7 ± 0.01 ^{Aab}	301.3 ± 31.6 ^{Bb}	0.4 ± 0.01 ^{ABa}
	14	476.3 ± 111.6 ^{Ba}	0.8 ± 0.00 ^{Bab}	0.7 ± 0.02 ^{Aa}	247.0 ± 56.4 ^{Ba}	0.3 ± 0.01 ^{Bab}
2	0	510.1 ± 42.1 ^{Ac}	0.8 ± 0.01 ^{Aa}	0.7 ± 0.01 ^{Aa}	309.7 ± 23.6 ^{Ac}	0.4 ± 0.01 ^{Aa}
	7	225.7 ± 20.9 ^{Bc}	0.8 ± 0.03 ^{ABa}	0.7 ± 0.03 ^{ABab}	121.0 ± 15.1 ^{Bc}	0.3 ± 0.03 ^{Bb}
	14	190.4 ± 24.3 ^{Bb}	0.8 ± 0.00 ^{Aab}	0.6 ± 0.09 ^{Ba}	87.8 ± 21.7 ^{Bab}	0.3 ± 0.01 ^{Bb}
3	0	1188.0 ± 161.4 ^{Ab}	0.8 ± 0.02 ^{Aa}	0.8 ± 0.01 ^{Aa}	733.0 ± 120.4 ^{Ab}	0.4 ± 0.01 ^{Aa}
	7	932.8 ± 71.0 ^{Ba}	0.8 ± 0.01 ^{Aa}	0.7 ± 0.01 ^{Aa}	571.6 ± 38.3 ^{Ba}	0.4 ± 0.02 ^{Aa}
	14	390.9 ± 37.1 ^{Cab}	0.8 ± 0.05 ^{Aa}	0.7 ± 0.02 ^{Aa}	215.5 ± 30.9 ^{Cab}	0.3 ± 0.01 ^{Ca}
4	0	213.3 ± 48.3 ^{Ad}	0.9 ± 0.02 ^{Aa}	0.7 ± 0.03 ^{Aa}	136.7 ± 36.9 ^{Ad}	0.4 ± 0.03 ^{Aa}
	7	229.3 ± 51.8 ^{Ac}	0.7 ± 0.01 ^{Bb}	0.6 ± 0.05 ^{Ab}	106.1 ± 23.8 ^{Ac}	0.3 ± 0.02 ^{Bb}
	14	189.7 ± 25.8 ^{Ab}	0.7 ± 0.02 ^{Bb}	0.6 ± 0.01 ^{Aa}	89.0 ± 14.3 ^{Ab}	0.3 ± 0.00 ^{Bb}
5	0	674.4 ± 137.0 ^{Ac}	0.8 ± 0.03 ^{Aa}	0.7 ± 0.04 ^{Aa}	411.9 ± 104.2 ^{Ac}	0.4 ± 0.04 ^{Aa}
	7	438.7 ± 109.6 ^{Bbc}	0.8 ± 0.03 ^{ABa}	0.7 ± 0.03 ^{Aab}	261.9 ± 77.6 ^{Bbc}	0.4 ± 0.03 ^{ABa}
	14	220.3 ± 54.1 ^{Cb}	0.8 ± 0.01 ^{Bab}	0.7 ± 0.03 ^{Aa}	114.1 ± 28.7 ^{Bab}	0.3 ± 0.01 ^{Bab}

Mayúsculas diferentes en el mismo tipo de queso representa una diferencia significativa a $p < 0.05$

Minúsculas diferentes entre quesos analizados en el mismo tiempo de muestreo representan una diferencia significativa a $p < 0.05$

Tabla 8. Cambios texturales de quesos elaborados con bacterias ácido lácticas aisladas de kéfir durante la maduración a 12 °C

Queso	Tiempo (d)	Dureza	Elasticidad	Cohesividad	Masticabilidad	Resiliencia
1	0	1708.2 ± 215.5 ^{Aa}	0.8 ± 0.02 ^{Aa}	0.7 ± 0.01 ^{Aa}	1000.6 ± 120.1 ^{Aa}	0.4 ± 0.01 ^{Aab}
	7	870.1 ± 231.7 ^{Ba}	0.8 ± 0.02 ^{Aa}	0.7 ± 0.01 ^{Aa}	513.9 ± 59.7 ^{Ba}	0.4 ± 0.00 ^{ABa}
	14	374.9 ± 24.1 ^{Ca}	0.8 ± 0.00 ^{Aa}	0.7 ± 0.01 ^{Aa}	196.5 ± 9.0 ^{Cab}	0.3 ± 0.00 ^{Ba}
2	0	1086.7 ± 159.0 ^{Ab}	0.8 ± 0.04 ^{Aa}	0.7 ± 0.03 ^{Aa}	643.3 ± 54.5 ^{Ab}	0.4 ± 0.03 ^{Aab}
	7	507.7 ± 165.1 ^{Cab}	0.8 ± 0.02 ^{Aa}	0.7 ± 0.01 ^{Aa}	310.5 ± 99.4 ^{Bab}	0.4 ± 0.02 ^{Aa}
	14	306.5 ± 66.8 ^{Ca}	0.8 ± 0.02 ^{Aa}	0.7 ± 0.00 ^{Aa}	161.1 ± 35.8 ^{Bab}	0.3 ± 0.00 ^{Ba}
3	0	396.8 ± 86.5 ^{Ad}	0.8 ± 0.03 ^{Aa}	0.7 ± 0.03 ^{Aa}	233.5 ± 48.9 ^{Ac}	0.4 ± 0.01 ^{Aab}
	7	419.5 ± 73.0 ^{Ab}	0.8 ± 0.01 ^{Aa}	0.7 ± 0.03 ^{Aa}	229.2 ± 48.4 ^{Ab}	0.4 ± 0.02 ^{ABa}
	14	313.6 ± 76.1 ^{Aa}	0.8 ± 0.01 ^{Aa}	0.7 ± 0.06 ^{Aa}	158.7 ± 152.0 ^{Aab}	0.3 ± 0.02 ^{Ba}
4	0	1033.9 ± 57.1 ^{Abc}	0.8 ± 0.01 ^{Aa}	0.7 ± 0.04 ^{Aa}	646.8 ± 48.7 ^{Ab}	0.4 ± 0.03 ^{Aa}
	7	401.4 ± 3.0 ^{Bb}	0.8 ± 0.1 ^{Aa}	0.6 ± 0.02 ^{Aa}	199.6 ± 64.3 ^{Bcb}	0.3 ± 0.09 ^{Bb}
	14	268.3 ± 52.4 ^{Ba}	0.6 ± 0.06 ^{Bb}	0.4 ± 0.07 ^{Bb}	56.7 ± 16.6 ^{Bb}	0.1 ± 0.02 ^{Cb}
5	0	237.3 ± 59.1 ^{Bd}	0.9 ± 0.00 ^{Aa}	0.7 ± 0.04 ^{Aa}	144.3 ± 42.3 ^{Bc}	0.4 ± 0.02 ^{Bab}
	7	720.9 ± 118.1 ^{Aab}	0.8 ± 0.01 ^{Aa}	0.7 ± 0.01 ^{Aa}	417.9 ± 59.9 ^{Aab}	0.4 ± 0.00 ^{Aa}
	14	636.7 ± 53.3 ^{ABa}	0.8 ± 0.01 ^{Aa}	0.7 ± 0.00 ^{Aa}	351.8 ± 33.2 ^{ABa}	0.4 ± 0.01 ^{ABa}

Mayúsculas diferentes en el mismo tipo de queso representa una diferencia significativa a $p < 0.05$

Minúsculas diferentes entre quesos analizados en el mismo tiempo de muestreo representan una diferencia significativa a $p < 0.05$

3.5.1 Dureza

La Figura 9 presenta la evolución del perfil de dureza de quesos elaborados con *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus paracasei* y con un cultivo comercial de *Streptococcus thermophilus*. La Figura 9A muestra la evolución de los quesos madurados a una temperatura de 8 °C, mientras que la Figura 9B la de los quesos madurados a 12 °C. En términos generales se observó que la dureza de los quesos estuvo en un rango de 100 a 1900 kg m/s² y que durante el almacenamiento todos los sistemas presentaron una disminución de esta propiedad. En quesos madurados, la disminución de la dureza generalmente se puede asociar a la proteólisis de caseínas por enzimas nativas de leche (como la plasmina), proteasas de los microorganismos inoculados o por actividad remanente del cuajo, principal responsable del

ablandamiento del queso en las etapas iniciales de la maduración; la solubilización del fosfato de calcio coloidal por disminución de pH durante el almacenamiento también tiene un papel determinante en la disminución de la firmeza del queso en dicha etapa (Banks, 2011).

Al día 0, los quesos que exhibieron una mayor dureza ($1900 \pm 147.68 \text{ Kg m/s}^2$) fueron aquellos del sistema 1, elaborados con *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus thermophilus* como inóculo; durante la elaboración de un queso madurado se espera que la textura aumente debido a la pérdida de humedad del queso (Awad *et al.*, 2005), sin embargo, esto no sucedió en los quesos elaborados por haber sido empacados en bolsas de polietileno durante todo el periodo, respecto a la temperatura de almacenamiento para la maduración, se observó una menor dureza en sistemas almacenados a $12 \text{ }^\circ\text{C}$. Se observó una disminución en todos los sistemas conforme el tiempo de almacenamiento aumentó, sin embargo, al término de los 14 días independientemente de la temperatura de maduración, los sistemas presentaron valores de dureza menores a 600 kg m/s^2 .

Se observó diferencia significativa ($p < 0.05$) en todos los quesos en su dureza, a excepción del sistema 4, en el que la dureza permaneció constante durante el almacenamiento. Por otro lado, se observa una gran diferencia en el sistema 3 y 5 los cuales presentaron cambios significativos cada día de su muestreo a una temperatura de $8 \text{ }^\circ\text{C}$, hasta alcanzar una estabilidad entre todos los sistemas para el final del día 14, a excepción del sistema 4 el cual presentó una característica de dureza más elevada que las de los demás sistemas dentro de una temperatura de $8 \text{ }^\circ\text{C}$. Finalmente, a una temperatura de $12 \text{ }^\circ\text{C}$ los sistemas se desestabilizan y presentan diferencias entre sí sin llegar a un valor semejante para el final de su muestreo.

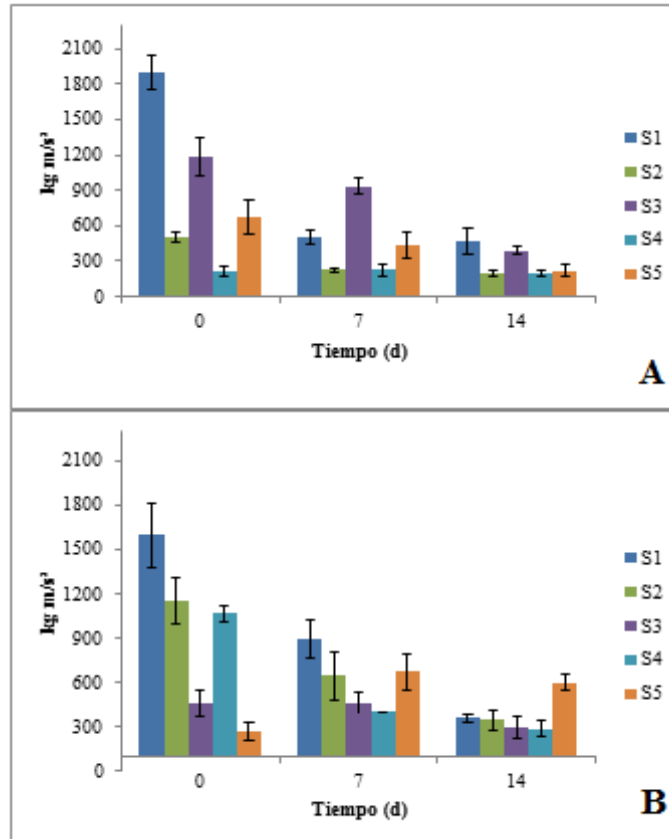


Figura 9. Evolución del perfil de dureza de quesos elaborados con BAL de kéfir artesanal y de un cultivo comercial madurados a 8 °C (A) y 12 °C (B).

3.5.2 Elasticidad

En la Figura 10 se presenta el perfil de elasticidad de los quesos elaborados; en términos generales se observa que durante el almacenamiento la elasticidad no sufrió de diferencias significativas ($p < 0.05$), a excepción del sistema 4 el cual obtuvo una disminución durante su último día de almacenamiento de esta propiedad a una temperatura de 12 °C, por otro lado, a una temperatura de 8 °C se observan cambios significativos ($p < 0.05$) en el sistema 4 a partir del día 7 de su almacenamiento.

Esto puede deberse principalmente a la proteólisis, Awad *et al.*, (2005) reportaron que la disminución de los valores de dureza y elasticidad en productos lácteos se puede atribuir a este proceso, debido a que se hidrolizan los κ -caseinatos,

responsables de la elasticidad y estructura en el queso, observando una disminución de 0.2 en su elasticidad al termino de los 14 días de almacenamiento.

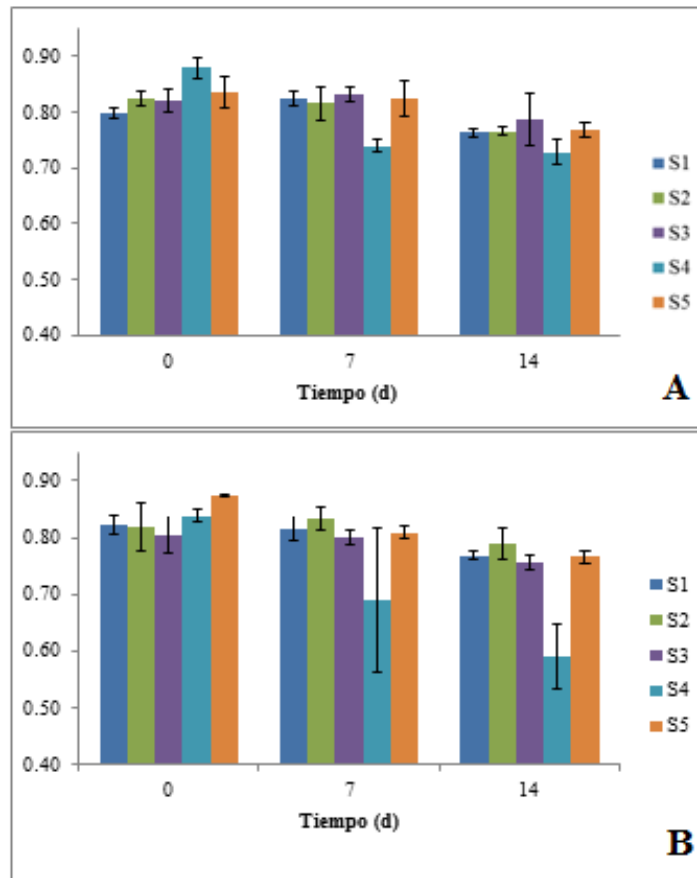


Figura 10. Evolución del perfil de elasticidad de quesos elaborados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados durante 14 días a una temperatura de 8 °C (A) y 12 °C (B).

3.5.3 Cohesividad

La Figura 11 presenta el perfil de comportamiento de la cohesividad de los quesos elaborados, la Figura 11A se refiere a los quesos almacenados a una temperatura de 8°C mientras que los almacenados a una temperatura de 12 °C son representados en la Figura 11B. En general se observó que la cohesividad presentó un comportamiento estable y por lo tanto una disminución no significativa ($p < 0.05$) durante el tiempo de almacenamiento, sin embargo, se presentaron diferencias

significativas ($p < 0.05$) en el sistema 4, principalmente a una temperatura de 12°C y al final del almacenamiento.

Esto puede deberse a la estructura del queso ya que debido a una proteólisis mucho más acelerada se genera un colapso, a tal grado que disminuye su capacidad de regeneración y por lo tanto su punto límite de deformación es menor, generado a partir de un descenso en el pH y una elevada concentración de humedad dentro de la matriz alimenticia provocando cambios en la textura y sabor de los quesos, los cuales pueden obtener un sabor amargo y una textura demasiado blanda, estos cambios pueden observarse al comparar los quesos y sus niveles de acidez y de pH, ya que el sistema 4 es el que tiene una disminución considerable en sus propiedades fisicoquímicas al igual que sus cambios dentro de los parámetros antes mencionados.

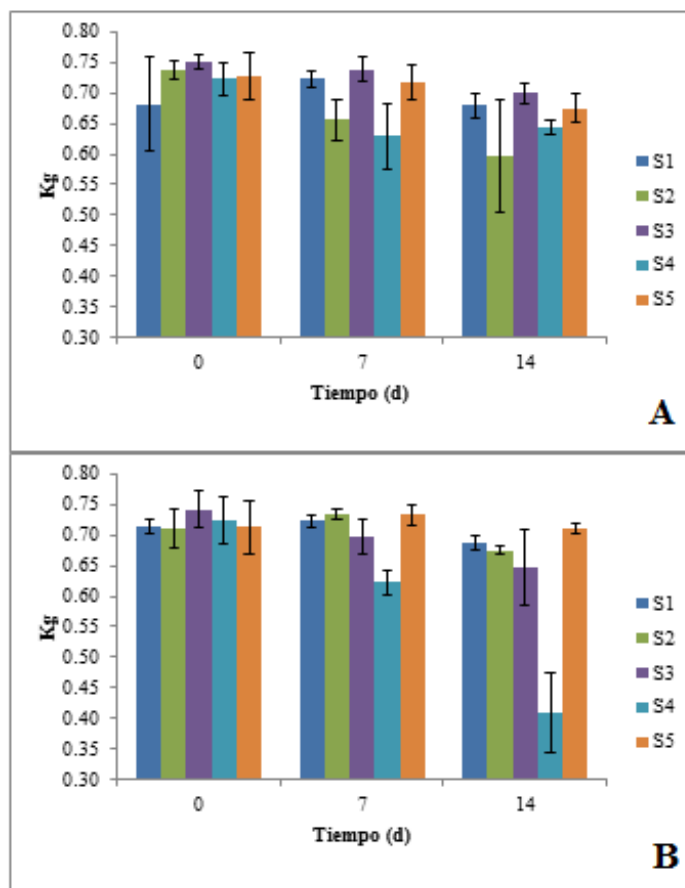


Figura 11. Evolución del perfil de cohesividad de quesos elaborados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados durante 14 días a una temperatura de 8°C (A) y 12°C (B).

3.5.4 Masticabilidad

La Figura 12 representa el perfil de masticabilidad de quesos elaborados y almacenados como se mencionó anteriormente. La Figura 12A se refiere a los quesos madurados a una temperatura de 8°C, mientras que la Figura 12B es de quesos madurados a 12°C. La masticabilidad osciló de 1030 a 70 kg y durante el almacenamiento todos los sistemas presentaron una disminución de esta propiedad (probablemente por influencia directa del cambio en los parámetros primarios de textura); asimismo, el comportamiento de los sistemas es descendente respecto al tiempo de maduración, alcanzando valores inferiores a los 400 Kg al finalizar su estudio. Para cualquiera de los sistemas a diferentes temperaturas, esta característica se observa desde el día 7 para algunos sistemas; de igual forma se observa que una vez que se alcanza un promedio cercano a este valor, la disminución drástica de los valores de la masticabilidad se estabilizan y se vuelven mucho menos acelerados que al principio. Se observa una reducción significativa ($p < 0.05$) en los parámetros de masticabilidad a partir del primer día de almacenamiento entre los sistemas, sin embargo las diferencias durante su almacenamiento se presentaron en los primeros 7 días de su maduración manteniéndose estables en la mayoría de los sistemas, el sistema 2 y 3 presentaron diferencia significativa ($p < 0.05$) en la evaluación de este parámetro durante el almacenamiento. En la Figura 11B se puede observar que el sistema 3 presenta una disminución inicial de la fuerza necesaria para su deformación desde el inicio de su análisis, manteniéndose sin cambios significativos hasta el final de su estudio. Este parámetro es el producto de la dureza por la cohesividad y la elasticidad, por lo que al presentar variaciones en alguno de estos parámetros, los datos obtenidos en la masticabilidad serán representativos de los antes mencionados, esta propiedad como se define representa el trabajo necesario para poder desintegrar un alimento hasta el momento en el que esté listo para poder ser deglutido.

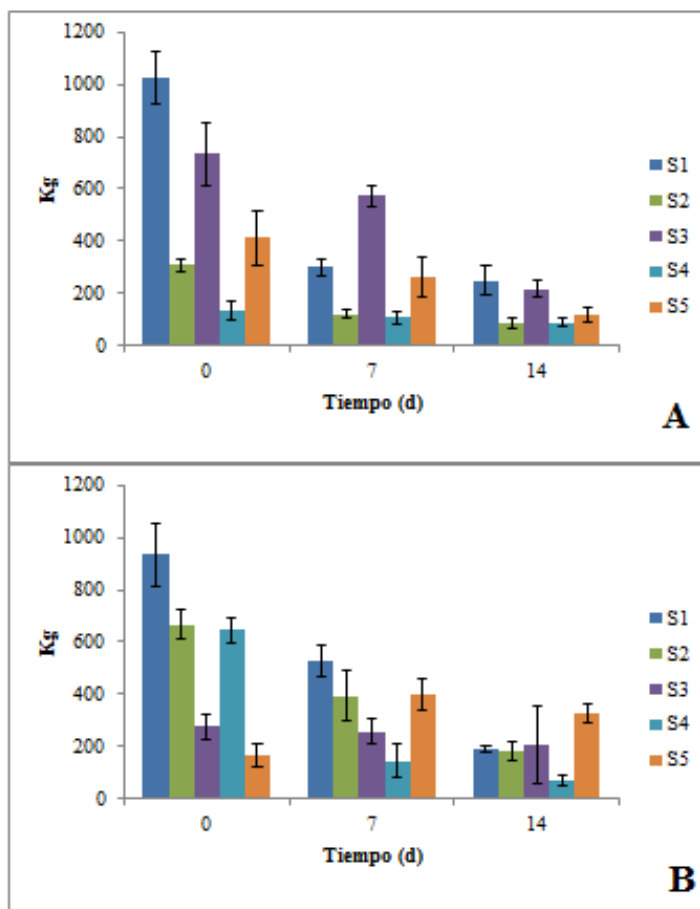


Figura 12. Evolución del perfil de masticabilidad de quesos elaborados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados durante 14 días a una temperatura de 8°C (A) y 12°C (B).

3.5.5 Resiliencia

La Figura 13 representa el perfil de resiliencia de quesos elaborados con *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus paracasei* y con un cultivo comercial que contenía *Streptococcus thermophilus*. La Figura 13A se refiere a los quesos madurados a una temperatura de 8°C, mientras que la Figura 13B es de quesos madurados a 12°C. En la Figura 13A se observó que la mayoría de los sistemas se mantuvieron por arriba de los 0.35 Jm³ a excepción del sistema 4 el cual presentó una disminución drástica de esta propiedad a partir del día 7, llegando a un valor de 0.28 Jm³, el cual se mantuvo estable para el final de su evaluación, esto puede verse afectado por la contracción de la

matriz proteica y la pérdida de humedad (Bejarano-Toro *et al.*, 2017). Por otro lado, se observa en una tendencia lineal a la disminución de la propiedad de resiliencia en la Figura 12B para todos los sistemas, a excepción del sistema 5 el cual presentó un aumento durante el día 7 de maduración, que posteriormente sufrió de una disminución de su valor hasta alcanzar un valor de 0.40, sin embargo, el sistema 4 sufrió una disminución mayor en ambas temperaturas, se observa que el sistema 4 al finalizar los 14 días de almacenamiento, presentó un valor de $0.157 \text{ J} \cdot \text{m}^3$ siendo este el valor más bajo de todos los sistemas. Un cambio en la resiliencia de los quesos se debe principalmente a que la matriz ha sufrido daños en su estructura interna al tener una disminución en su pH y un aumento en la acidez, lo cual genera una degradación proteolítica del queso y una inestabilidad dentro de las micelas de caseína, generando quiebres dentro de las redes que dan firmeza al queso y la facilidad de regresar a su forma, por lo que al paso del tiempo esta va deformándose y dando la apariencia de un queso pastoso.

A pesar de estos cambios, no existió diferencia significativa ($p > 0.05$) en la resiliencia y que esta propiedad puede presentarse a los 7 o 14 días de almacenamiento..

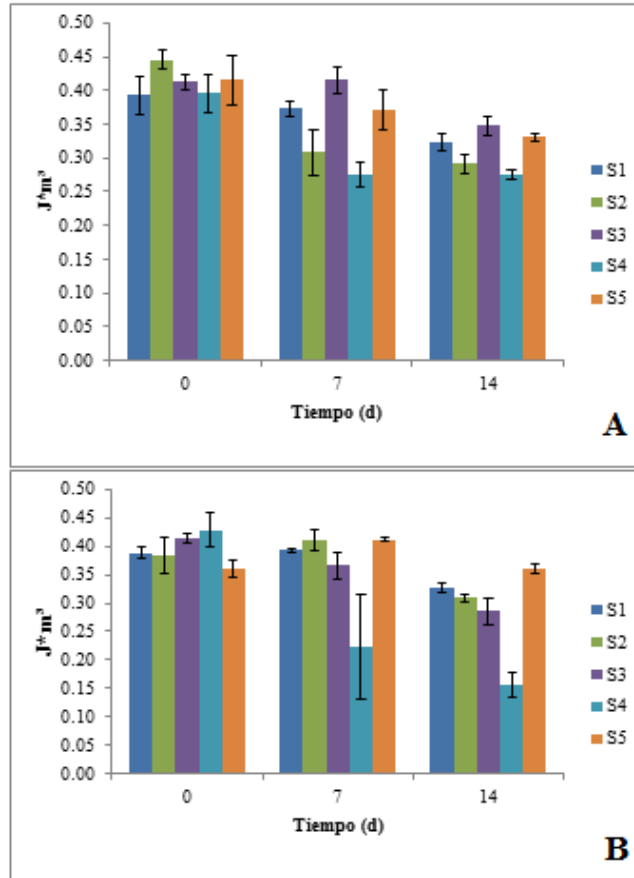


Figura 13. Evolución del perfil de resiliencia de quesos elaborados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados durante 14 días a una temperatura de 8°C (A) y 12°C (B).

3.6 Análisis de pH

En la Tabla 9 y 10 se representan los parámetros de pH de quesos madurados durante el almacenamiento a 8 y 12 °C respectivamente, elaborados con *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus paracasei* y con un cultivo comercial que contenía *Streptococcus thermophilus*. En general se observa que a mayor tiempo de maduración menor el valor de pH de cada uno de los sistemas, alcanzando como valor mínimo 4.95 independientemente la temperatura de maduración, se puede observar que la

temperatura de maduración no tuvo un efecto significativo ($p > 0.05$) en el pH, debido a que se esperaba que existiera una influencia de la temperatura de maduración sobre los microorganismos presentes en el queso. Bergamini *et al.*, (2005), mencionaron que, la temperatura influye en el pH debido a que afecta el crecimiento de microorganismos inoculados en queso, si bien, se observa que los valores del queso 1 son más bajos que los demás, esto puede deberse a la presencia de cuajo dentro del queso, que se utilizó para la elaboración del mismo.

Tabla 9. pH de quesos madurados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 8°C.

Queso	Tiempo (d)		
	0	7	14
1	5.12 ± 0.02 ^a	4.96 ± 0.10 ^a	4.95 ± 0.18 ^a
2	5.89 ± 0.11 ^a	5.60 ± 0.17 ^{ab}	5.19 ± 0.21 ^b
3	5.91 ± 0.04 ^a	5.56 ± 0.10 ^b	5.16 ± 0.21 ^c
4	5.83 ± 0.13 ^a	5.33 ± 0.11 ^b	5.19 ± 0.06 ^b
5	5.94 ± 0.07 ^a	5.81 ± 0.09 ^{ab}	5.44 ± 0.22 ^b

Nota: Letras diferentes en fila indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

Tabla 10. pH de quesos madurados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 12°C.

Queso	Tiempo (d)		
	0	7	14
1	5.12 ± 0.02 ^a	4.96 ± 0.10 ^a	4.95 ± 0.18 ^a
2	5.89 ± 0.11 ^a	5.60 ± 0.17 ^{ab}	5.19 ± 0.21 ^b
3	5.91 ± 0.04 ^a	5.56 ± 0.10 ^b	5.16 ± 0.21 ^c
4	5.83 ± 0.13 ^a	5.33 ± 0.11 ^b	5.19 ± 0.06 ^b
5	5.94 ± 0.07 ^a	5.81 ± 0.09 ^{ab}	5.44 ± 0.22 ^b

Nota: Letras diferentes en fila indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

3.7 Análisis de Color en el queso

3.7.1 Parámetro a^* (rojo-verde)

Las Tablas 11 y 12 presentan el comportamiento el parámetro de color a^* de quesos elaborados con *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus paracasei* y con un cultivo comercial que contenía *Streptococcus thermophilus*. En la Tabla 11 se observan los

datos correspondientes a un almacenamiento de 8°C, mientras que en la Tabla 12 los correspondientes a una temperatura de 12°C.

Los valores del parámetro a^* oscilaron de 25.09 a 22.42 a una temperatura de maduración de 8°C, mientras que a 12°C los valores fueron de 26.58 a 21.58. Se puede observar que la diferencia más notoria en el cambio de este parámetro se encuentra en el queso del sistema 4, el cual tuvo una variación significativa durante cada día de su estudio. Respecto a las diferencias en la temperatura de maduración se puede observar que el parámetro a^* no sufrió diferencia significativa ($p < 0.05$).

Tabla 11. Parámetro a^* de quesos madurados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 8°C.

Queso	Tiempo (d)		
	0	7	14
1	23.24 ± 0.73 ^a	23.62 ± 0.03 ^a	22.90 ± 0.13 ^a
2	22.71 ± 0.15 ^a	23.79 ± 0.05 ^b	22.75 ± 0.08 ^b
3	22.78 ± 0.28 ^b	23.97 ± 0.06 ^a	23.18 ± 0.10 ^b
4	25.09 ± 0.06 ^a	23.74 ± 0.02 ^b	22.42 ± 0.06 ^c
5	23.48 ± 0.08 ^a	23.65 ± 0.09 ^a	22.45 ± 0.03 ^b

Nota: Letras diferentes en fila indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

Tabla 12. Parámetro a^* de quesos madurados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 12°C

Queso	Tiempo (d)		
	0	7	14
1	23.20 ± 0.08 ^b	23.63 ± 0.05 ^a	22.90 ± 0.10 ^c
2	23.24 ± 0.10 ^c	26.09 ± 0.03 ^a	25.74 ± 0.06 ^b
3	23.32 ± 0.18 ^a	23.55 ± 0.02 ^a	21.92 ± 0.03 ^b
4	26.58 ± 0.13 ^a	23.95 ± 0.03 ^b	22.42 ± 0.06 ^c
5	23.48 ± 0.06 ^a	23.62 ± 0.03 ^a	21.58 ± 0.13 ^b

Nota: Letras diferentes en fila indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

3.7.2 Parámetro b^* (azul-amarillo)

Las Tablas 13 y 14 presenta el comportamiento el parámetro de color b^* de quesos elaborados con *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus paracasei* y con un cultivo comercial que contenía *Streptococcus thermophilus*. En la Tabla 13 se observan los datos correspondientes a un almacenamiento de 8°C, mientras que los de la tabla 14 son los datos correspondientes a una temperatura de 12°C. Los valores entre los que

oscilaron los quesos a una temperatura de 8° C fueron de -7.20 y -2.27, mientras a una temperatura de 12 ° C los valores fueron de -7.15 y -3.18 unidades. Se puede observar que a una temperatura de 8 °C los quesos de los sistemas 1 y 2 presentan un aumento en sus valores de manera significativa conforme va pasando el tiempo, mientras que a una temperatura de 12 °C los quesos que presentaron un aumento fueron los sistemas 1 y 5, lo cual está relacionado a la cantidad de sólidos totales, grasa y aminoácidos presentes en el queso (Jaramillo, *et al.*, 2008; Pinho, *et al.*, 2004; Pillonel-Bedertscher, *et al.*, 2002; Rohm y Jaros, 1997).

Tabla 13. Parámetro b^* de quesos madurados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados durante 14 días a una temperatura de 8°C.

Queso	Tiempo (d)		
	0	7	14
1	-7.20 ± 0.07 ^c	-6.44 ± 0.05 ^b	-5.07 ± 0.31 ^a
2	-7.01 ± 0.15 ^c	-3.73 ± 0.38 ^b	-2.27 ± 0.35 ^a
3	-7.17 ± 0.17 ^b	-4.07 ± 0.07 ^a	-3.64 ± 0.27 ^a
4	-6.07 ± 0.06 ^b	-5.01 ± 0.08 ^a	-5.00 ± 0.12 ^a
5	-6.71 ± 0.23 ^b	-6.66 ± 0.24 ^b	-4.39 ± 0.10 ^a

Nota: Letras diferentes en fila indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

Tabla 14. Parámetro b^* de quesos madurados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 12 °C.

Queso	Tiempo (d)		
	0	7	14
1	-7.15 ± 0.21 ^c	-6.42 ± 0.06 ^b	-4.51 ± 0.24 ^a
2	-6.14 ± 0.42 ^b	-6.13 ± 0.21 ^b	-3.18 ± 0.22 ^a
3	-6.74 ± 0.52 ^b	-6.13 ± 0.21 ^b	-3.72 ± 0.14 ^a
4	-5.20 ± 0.08 ^a	-4.01 ± 0.18 ^a	-3.89 ± 1.06 ^a
5	-6.58 ± 0.21 ^c	-5.79 ± 0.21 ^b	-5.20 ± 0.09 ^a

Nota: Letras diferentes en fila indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

3.7.3 Parámetro L (luminosidad)

Las Tablas 15 y 16 presentan el comportamiento en la Luminosidad de los quesos elaborados. La Tabla 15 se refiere a los quesos madurados a una temperatura de 8 °C, mientras que la Tabla 16 es de quesos madurados a 12 °C. En términos generales se estableció que en la mayoría de los quesos hubo una pérdida de luminosidad con el

paso del tiempo, así mismo se observa que la temperatura influyó en este parámetro, lo cual puede deberse a que los quesos con un alto contenido de humedad tienden a ser más luminosos y menos saturados como reporta Alvarez *et al.*, (2007). Por otro lado, se observa que la temperatura de 8°C no tuvo influencia en el sistema 2 correspondiente al queso elaborado con *Lactobacillus paracasei* y *Streptococcus thermophilus*, pero con el aumento de la temperatura a 12 °C este sufrió de una pérdida de luminosidad significativa ($p<0.05$).

Tabla 15. Luminosidad de quesos madurados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 8 °C.

Queso	Tiempo (d)		
	0	7	14
1	15.38 ± 0.69 ^a	6.57 ± 0.06 ^b	3.70 ± 0.30 ^c
2	11.74 ± 0.60 ^a	12.89 ± 0.38 ^a	12.64 ± 0.39 ^a
3	8.26 ± 0.11 ^a	5.91 ± 0.26 ^b	4.56 ± 0.16 ^c
4	8.58 ± 0.06 ^a	7.30 ± 0.04 ^b	6.18 ± 0.17 ^c
5	12.97 ± 0.25 ^a	9.08 ± 0.21 ^b	5.09 ± 0.06 ^c

Nota: Letras diferentes en fila indican diferencia significativa ($p<0.05$).

Tabla 16. Luminosidad de quesos madurados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 12 °C.

Queso	Tiempo (d)		
	0	7	14
1	12.07 ± 5.29 ^a	5.25 ± 0.01 ^{ab}	2.88 ± 0.03 ^b
2	11.63 ± 0.82 ^a	5.90 ± 0.23 ^b	4.52 ± 0.11 ^c
3	8.70 ± 1.45 ^a	6.69 ± 0.04 ^a	3.70 ± 0.37 ^b
4	8.73 ± 0.09 ^c	10.39 ± 0.46 ^a	9.80 ± 0.46 ^b
5	13.17 ± 0.34 ^a	11.46 ± 0.54 ^b	9.66 ± 0.08 ^c

Nota: Letras diferentes en fila indican diferencia significativa ($p<0.05$).

3.8 Crecimiento microbiano

3.8.1 Coliformes totales

En la Figura 14 se presenta la cinética de crecimiento de coliformes totales de los quesos elaborados. La Figura 14A se refiere a los quesos almacenados a una temperatura de 8°C, mientras que la Figura 14B es de quesos madurados a 12°C. Los coliformes totales exhibieron un incremento en su concentración a partir del día 7, valor que se encuentra dentro de los límites permitidos que establece la NOM-243-

SSA1-2010, en la cual se marca como límite permitido un conteo de 6.3Log (UFC/g); esto puede atribuirse a una recontaminación durante su análisis o almacenamiento, usual durante su manipulación. Por otro lado, Al finalizar el almacenamiento, el queso 5 sobrepasa el limite permisible por la NOM-243. Se observa que la temperatura no tuvo una influencia en el desarrollo microbiológico de los diferentes sistemas observando un comportamiento similar para ambas temperaturas.

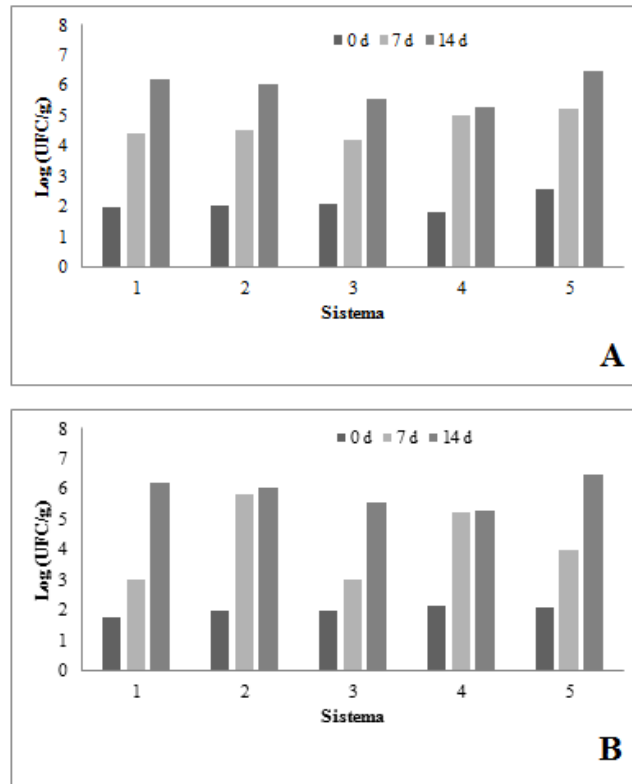


Figura 14. Cinética de crecimiento de coliformes totales de quesos elaborados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados por 14 días a 8°C (A) y 12°C (B).

3.8.2 Hongos y levaduras

En la Figura 15 se presenta la cinética de crecimiento de hongos y levaduras de los quesos elaborados; respectivamente, a una temperatura de 8 °C (15 A) y los quesos madurados a 12 °C. Si bien se observa un desarrollo de hongos y levaduras en la mayoría de los quesos a partir del primer día de elaboración, se ha reportado que se pueden presentar en el ambiente esporas de hongos que pudieran contaminar la zona o

utensilios que se encuentren fuera de la zona de esterilidad Hernández-Díaz, y Durán-Mendoza, (2013) Respecto a la disminución de la carga microbiológica después del 7 día de almacenamiento, el queso fue sumergido en una solución de sorbato de potasio para disminuir la carga poblacional de los quesos.

Como se observa en la Figura 15A los microorganismos no alcanzaron más de 6 ciclos logarítmicos mientras que en la Figura 15B llegaron a alcanzar 8 ciclos logarítmicos, si bien reportan Frazier y Westhoff, (1994), la temperatura optima de crecimiento de los hongos se ha especificado entre 20 y 30°C pero pueden crecer a temperaturas inferiores si cuentan con las condiciones de crecimiento requeridas.

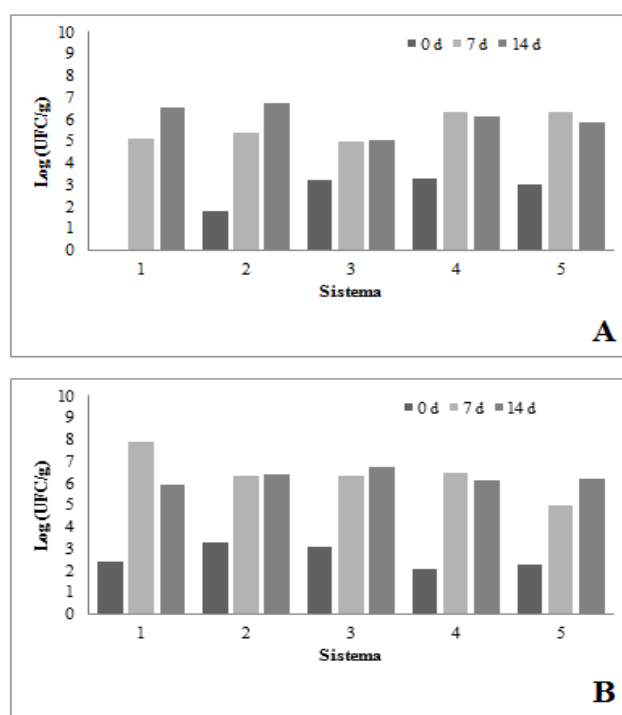


Figura 15. Cinética de crecimiento de hongos y levaduras de quesos elaborados con bacterias ácido lácticas de kéfir artesanal y de un cultivo comercial, madurados durante 14 días a una temperatura de 8°C (A) y 12°C (B).

3.8.3 Bacterias ácido lácticas

La Figura 16 presenta la cinética de crecimiento de bacterias ácido-lácticas de quesos elaborados con *L. acidophilus* y *L. paracasei* y con el cultivo comercial de *Streptococcus thermophilus*. La Figura 16A presenta el crecimiento microbiano en quesos madurados a 8°C, mientras que la Figura 17B la de quesos madurados a 12°C.

En general se observó un crecimiento exponencial de los microorganismos dentro de cada uno de los quesos, respecto al desarrollo a diferentes temperaturas, se observó en la Figura 16B que se alcanzaron 8 ciclos log al final de la maduración, mientras que en la Figura 16A su nivel más alto al final de los 14 días de maduración fue de 7 ciclos, sin embargo a pesar de que el desarrollo al final de la maduración es similar, se observó un desarrollo acelerado en la Figura 16B a comparación de la Figura 16A, Parra-Huertas, (2010) reportó que el desarrollo de las BAL se puede ver afectado o influenciado por la temperatura y los nutrientes del alimento.

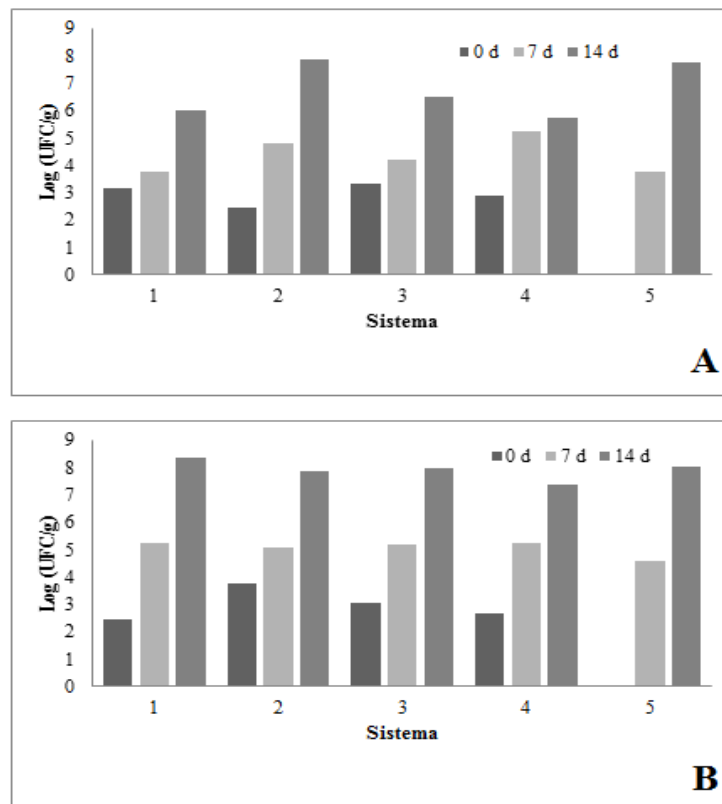


Figura 16. Cinética de crecimiento de bacterias ácido-lácticas de quesos elaborados con inóculo aislado de kéfir artesanal y de un cultivo comercial por 14 días a 8°C (A) y 12°C (B).

CONCLUSIONES

- Es posible el uso de microorganismos aislados del kéfir como cultivos iniciadores o adjuntos para la elaboración de un queso madurado, manteniendo condiciones de maduración controladas, así como buenas prácticas de higiene.
- La microbiota presente en el consorcio de Kéfir artesanal es compleja, pero las técnicas de asilamiento permitieron asilar e identificar los microorganismos presentes dentro de esta matriz como son bacterias ácido lácticas y levaduras.
- Las técnicas de PCR permitieron identificar que las BAL presentes en el kéfir, corresponden a los microorganismos *Lactobacillus casei*, *L. paracasei* y *Lactobacillus acidophilus*.
- El aislamiento y caracterización adecuada de los microorganismos es fundamental para conocer su desarrollo óptimo y las condiciones que puede generar en una matriz seleccionada.
- Se observó un cambio en el pH y acidez de los quesos, lo que generó una degradación en su estructura, provocando un colapso del alimento.
- La temperatura de maduración que generó una menor degradación de las propiedades de textura y fisicoquímicas fue la de 8°C.
- El cambio de color en los quesos no es significativo durante su maduración; sin embargo, se perciben ligeros cambios de luminosidad, conforme va pasando el tiempo de maduración.
- La textura de los quesos se vio influenciada por el aumento de la acidez de los quesos y por el tipo de microorganismo que se encontraba en el sistema, obteniendo quesos con una dureza baja y de consistencia extremadamente suave.

RECOMENDACIONES

- Realizar un análisis sensorial para observar el nivel de aceptación del consumidor del producto elaborado.
- Realizar un estudio de proteólisis como factor de evaluación del grado de maduración de los quesos.
- Realizar la viabilidad del queso para categorizarlo como un alimento probiótico.
- Reducir el tiempo de maduración de los quesos a un periodo de 10 días para determinar la pérdida de la estabilidad microbiológica como física.
- Evaluar de manera diaria el desarrollo de las cepas en los quesos.
- Utilizar las levaduras aisladas del consorcio de kéfir para observar cómo se comportan en la maduración del queso y su aportación al mismo.

BIBLIOGRAFÍA

- Angulo L. (1992). Microflora present in kéfir grains of Galician region (North-West of Spain). *J Dairy Res.* 60: 263-267.
- Ahmed, Z., Wang, Y., Ahmad, A., Khan, S. T., Nisa, M., Ahmad, H., Afreen, A. (2013). Kefir and Health: A contemporary Perspective. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 53(5), 422-434.
- Alvarez, S., Rodriguez, V., Ruiz, M., Fresno, M. (2007). Correlaciones de textura y color instrumental con la composición química de quesos de cabra canarios. *Archivos de Zootecnia*, 56, 1: 663-666.
- AOAC. (2000). Association of official analytical chemists. In: *The Official Methods of Analysis*.
- Arslan, S., (2015) A review: chemical, microbiological and nutritional characteristics of kefir, *CyTA - JFSE* 13:3, 340-345.
- Awad, S., Hassan, A. N., Muthukumarappan, K. (2005) Application of Exopolysaccharide-Producing Cultures in Reduced Fat Cheddar Cheese: Texture and Melting Properties. *J. Dairy Sci.*, 88, 4204-4213.
- Banks J. M., (2011). Cheddar-Type Cheeses. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences* Second Edition. (pp706-711).
- Bejarano-Toro, E.E., Sepúlveda-Valencia, J.U., Correa-Londoño, G. (2017). Elaboración De Quesito Antioqueño Reducido En Sodio Y Adicionado Con *Bifidobacterium lactis*. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 15(1), 27-35.
- Bergamini, C.V., Hynes, E.R., Quiberoni, A., Suarez, V.B., Zalazar. C.A. (2005). Probiotic bacteria as adjunct starters: influence of the addition methodology on their survival in a semi-hard Argentinean cheese. *Food Res. Int.*38: 597–604
- Broome, M.C. (2003). Starter cultures: specific properties. In *Encyclopedia of Dairy Science* Vol. 1. Ed. Regisnki London Academic Press. London, England. Pp. 269-275.
- Cámara Nacional de la Industrial de la Leche. (2018). Estadísticas del sector lácteo 201 – 2017. CANILEC, 11.

- Caufield, P.W., Li, Y., Dasanayake, A., Saxena, D. (2007). Diversity of Lactobacilli in the oral cavities of young women with dental caries. *Caries Research*. 41: 2-8.
- Chen, L. y Opara, U.L. (2013). Approaches to analysis and modeling texture in fresh and processed foods. *J Food Eng.* 119 (3), 497-507.
- Codex Standard 283-1978. Codex Alimentarius. Norma General del Codex para el Queso. FAO. Roma, Italia.
- Dimitrellou, D., Kandyli, P., Mallouchos, A., Komaitis, M., Koutinas A. A., Kourkoutas, Y. (2010). Effect of freeze-dried kéfir culture on proteolysis in feta-type and whey-cheeses. *Food Chem.* 119:795-800.
- Dimitrellou, D., Kourkoutas, Y., Banat, I. M., Marchant, R., Koutinas, A. A., (2007). Whey-chesse production using freeze-dried kefir culture as starter. *J. Appl. Microbiol.*, 103: 1170-1183
- Doyle, J.J., Doyle, J.L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*. 19:11-15.
- FAO, (2018). Dairy and dairy products. Roma, Italia.
- Frazier W. y Westhoff D. (1994) *Microbiología de los Alimentos*. 4ª. ed. Acribia, España. 23-50.
- Fuentes-Fanegas, M., Londoño-Zapata, A., Durango-Zuleta, M., Gutierrez-Burítica, M., Ochoa-Agudelo, S., Sepulveda-Valencia, J. (2017). Capacidad antimicrobiana de bacterias ácido lácticas autóctonas aisladas de queso doble crema y quesillo colombiano. *Rev.Bio.Agro.* 15: 45-55.
- García-Fontán, M.C., Martínez S., Franco I., Carballo J., (2006), Microbiological and chemical changes during the manufacture of Kéfir made from cows' milk, using a commercial starter culture. *Int J Dairy Technol*, 16: 762-767.
- Goncu, A., Alpkent, Z. (2005). Sensory and chemical properties of white pickled cheese produced using kefir, yoghurt or commercial cheese culture as a starter, *Int J Dairy Technol*, 771-776.
- Guerrero, L., Román, S. y Pacheco, L. (2003). Proteólisis de la leche cruda almacenada en frío. Efecto de las enzimas proteolíticas sobre la integridad de las caseínas. *FCV-LUZ*, 13(3), 187-192.

- Hernández-Díaz, N., y Durán-Mendoza, T. (2013). Calidad sanitaria de los puntos iniciales de proceso de manufactura de queso. *Horizonte Sanitario*, 12 (2), 58-62.
- Jaramillo, D., Zamora, A., Guamis, B., Rodriguez, M., Trujillo, A. (2008). Cheesemaking aptitude of two Spanish dairy ewe breeds: Changes during lactation and relationship between physico-chemical and technological properties. *Small Ruminant Research*. 78: 48-55.
- Kalavrouzioti, I., Hatzikamari, M., Litopoulou-Tzanetaki, E. Y Tzanetakis, N. (2005). Production of hard cheese from caprine milk by the use of two types of probiotic cultures as adjuncts. *Int J Dairy Technol.* 58(1): 30-38.
- Katechaki, E., Panas, P., Kourkoutas, Y., Koliopoulos, D., Koutinas, A. A., (2009). Thermally-dried free and immobilized kéfir cells as starter culture in hard-type cheese production. *Bioresour. Technol.* 100: 3618-3624.
- Katechaki, E., Panas, P., Rapti, K., Kandilogiannakis, L., Koutinas, A. A., (2008) Production of Hard-Type Cheese Immobilized Freeze-Dried Kefir Cells as a Starter Culture. *J. Agric. Food. Chem.* 56: 9829-9836
- Korhonen, H. Pihlanto, A. (2006). Bioactive Peptides: Production and Functionality. *Int Dairy J*, 16: 945-960.
- Kourkoutas, Y., Kandyliis, P., Panas, P., Dooley, J. S. G., Nigam, P., Koutinas, A.A. (2006). Evaluation of Freeze-Dried Kefir Coculture as Starter in Feta-Type Cheese Production. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 6124-6135
- Kuwabara Y, Nagai S, Yoshimitsu N, Nakagawa I, Watanabe Y, Tamai Y (1995) Antihypertensive effect of the milk fermented by *Lactobacillus* cultures culturing with various lactic-acid bacteria and a yeast. *J. Ferm. Bioeng.* 80: 294-295.
- Kuda, T., Kataoka, M., Kawahara, M., Takahashi, H., Kimura, B. (2016). Isolation of lactic acid bacteria from plants of the coastal Satoumi regions for use as starter cultures in fermented milk and soymilk production. *LWT*, 68: 202-207
- Lucey, J. A., Johnson, M. E., & Horne, D. S. (2003). Perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese. *J.Dairy Sci.* 86: 2725-2743.

- Machado, A., Lemos, M.A., Silva, R., Soares, A., Trajano, J. Flosi, V.M. (2013). Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage. *Braz J Microbiol.* 44 (2), 341-349.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Parker, J. (2004). Brock Biología de los Microorganismos 10ª Ed. Prentice Hall. Madrid, España. pp 402, 403.
- Magalhaes, K.T., Pereira, M. A., Nicolau, A., Dagon, G., Domingues, L., Teixeira, J. A., Silva, J. B. A., Schwan, R. F. (2010). Production of fermented chesse whey-based beverage using kéfir grains as starter culture: Evaluation of morphological and microbial variations. *Bioresour. Technol.* 110 : 8843-8850.
- Mantzourani, I., Terpou, A., Alexopoulos, A., Chondrou, P., Galanis, A., Bekatorou, A., Bezirtzoglou, E., Koutinas, A. A., Plessas, S. (2018). Application of a Novel Potencial Probiotic *Lactobacillus paracasei* Strain Isolated from Kefir Grains in te Production of Feta-Type Chesse. *MDPI.* 6: 1-17.
- Manini, F., Casiraghi, M. C., Poutanen, K., Brasca, M., Erba, D., Plumed-Ferrer, C. (2016). Chrarakterization of lactic acid bacteria isolated from wheat bran sourdough. *LWT*, 66:275-283.
- Markiewicz, L., Biedrzycka E. (2005). Identification of Lactobacillus and Bifidobacterium species with PCR applied to quality control of fermented dairy beverages. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 55(4) 359–365.
- Marshall, V. M. (1993). Starter cultures for milk fermentation and their characteristics, *Int J Dairy Technol*, 46: 49-56.
- Mei, J., Guo, Q., Wu, Y., Li, Y., Yu, H., (2015). Study of Proteolysis, Lipolysis and Volatile Compounds of a Camembert-type Chesse Manufactured Using a Freeze-dried Tibetan Kefir Co-culture during Ripening. *Food Sci. Biotechnol.* 24:393-402
- Mendia, C., Ibanez, F. J., Torre, P., y Barcina, Y. (2000). Efect of pasteurization and use of a native starter culture on proteolysis in a ewes' milkcheese. *Food Control*, 11, 195–200.
- Miao, J., Guo, H., Ou, Y., Liu, G., Fang, X., Liao, Z., Ke, C., Chen, Y., Zhao, L., & Cao, Y., (2014). Purification and characterization of bacteriocin F1, a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* FX-6 from Tibetan kefir, a traditional fermented milk from Tibet, China. *Food Control*, 42, 48-53.

- Montes Milagrosa y García-Arenzana José María. (2006). Género *Streptococcus*: una revisión práctica para el laboratorio de microbiología. Servicio de Microbiología. Hospital Donostia. 3:14.
- Mora-Peñaflor, N., García-Guerrero A. (2007). Susceptibilidad de bacterias ácido-lácticas (BAL) frente a diversos antibióticos. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo, México. Obtenido de: <https://repository.uaeh.edu.mx/bitstream/handle/123456789/10561>
- Norma Oficial Mexicana NOM-091-SSA1-1994 Bienes y Servicios. Leche Pasteurizada de Vaca. Disposiciones y Especificaciones Sanitarias, Diario Oficial de la Federación. Ciudad de México, México.
- Norma Oficial Mexicana NOM-121-SSA1-1994, Bienes y servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias. Diario Oficial de la Federación. Ciudad de México, México.
- Norma Oficial Mexicana NOM-143-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. Diario Oficial de la Federación. Ciudad de México, México.
- Oficina Económica y Comercial de la Embajada de España en México, Hervás-Serrabajo, A., (2012), El mercado de queso en México, Obtenido de: <https://www.icex.es/icex/es/navegacion-principal/todos-nuestros->
- Olivo D., Galván M., López-Rodríguez G., Suárez-Diéguez T., González-Unzaga M., Anaya-Cisneros L. y López-Piña D., (2017). Actividad biológica y potencial terapéutico de los probióticos y el kefiran del grano de kéfir. *ReIbCi*. 4, 49-56.
- Ozer, D. J. (1999). Four Principles for Personality Assessment. *Hanbook of personality: Theory and research*, 2 eds, 27: 671-685
- Parra-Huertas R.A., (2010). Bacterias Ácido Lácticas: papel funcional en los alimentos. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 8, 1: 94-105
- Pillonel-Bedertscher, R., Butikofer, U., Casey, M., Dalla-Torre, M., Lavanchy, P., Meyer, J., Tabacchi, R., Bosset, J. (2002). Analytical methods for the determination of geographic origin of Emmental cheese. Main framework of the project:

chemical, biochemical, microbiological, color and sensory analyses. *Eur. Food Res. Technol.* 215, 260:267.

- Pinho, O., Mendes, E., Alves, M., Ferreira, I. (2004) Chemical, physical and sensorial characteristics of “Terrincho” ewe cheese: changes during ripening and intravarietal comparison. *J. Dairy Sci.* 87, 2:249-257.
- Plessas, S., Nouska, C. Mantzourani, I., Kourkoutas, Y., Alexopoulos, A., Bezirtzoglou, E., (2016). Microbiological Exploration of Different Types of Kefir Grains. *MDPI.* 3: 1-10
- Ramachandran, P., Lacher, D.W., Pfeiler, E.A., Elkins, C.A. (2013). Development of a tiered multilocus sequence typing scheme for members of the *Lactobacillus acidophilus* complex. *Appl. Environ. Microbiol.* 79 (23) 7220–7228.
- Ramírez-López C., Vélez-Ruiz J. F. (2012). Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *TSIA*, 6: 131 – 148.
- Revilla, A. (1982). Tecnología de la leche. Procesamiento, Manufactura y Análisis. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. (pp 399).
- Rodríguez, J., Noriega, J., Lucero, A., Tejeda, A., (2017). Avances en el estudio de la bioactividad multifuncional del kéfir. *Interciencia*, 42(6), 347-354.
- Rohm, H. y Jaros, D. (1997). Colour of hard cheese 2. Factors of influence and relation to compositional parameters. *Eur. Food Res. Technol.* 204, 259:264.
- Ruvalcaba-Gómez J.M., (2015), Determinación del efecto de la formación de agregados de B-Lactoglobulina sobre las características físico-químicas del queso adobera, (Tesis de maestría no publicada) Instituto Politécnico Nacional, Tlaxcala.
- Rynne N. M., Beresford T. P., Guinee T. P., Sheehan E., Delahunty C. M. , Kelly A. L., (2008). Effect of high-pressure treatment of 1 day-old full-fat Cheddar cheese on subsequent quality and ripening. *Innov Food Sci Emerg Technol.*, 9: 429–440.
- Sánchez L. Vichi J., Ilanes M., Castro E., Soler D. M., Espinosa I., Kociubinki G. L. Ferreira C.L., (2011), Aislamiento y caracterización in vitro de cepas de *Lactobacillus spp.* como candidato a probióticas. *Salud Animal.* 33: 154-160.
- Sul, S. Y., Kim, H.J., Kim, T.W., Kim, H.Y. (2007). Rapid Identification of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* in probiotic products using multiplex PCR. *J. Microbiol. Biotechnol.* 17 (3): 490–495.

- Tamay de Dios, L., Ibarra, C., Velasquillo, C. (2013). Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Tecnología en salud*, 2:70-78
- Tamime, A.Y. (2006). Fermented Milks, *Int J Dairy Technol*, 12-13.
- Teubner, Ch., Mair-Waldburg, H., y Wilhelm Ehlert, F. (2002). El Gran Libro del Queso. León: Editorial Everest Tojo Sierra R.,
- Teneva-Angelova, T., Beshkova, D. (2015). Non-traditional sources for isolation of lactic acid bacteria. *Ann Microbiol*, 66: 449-459.
- Torres-González J.D., González-Morelos K.J., Acevedo-Correa D. (2015). Análisis del perfil de textura de frutas, productos cárnicos y quesos. *ReCiTeIA*. 14 (2), 64-75.
- Walstra, P., Wouters, J., Geurts, T. (2006). Milk: main characteristics. En *Dairy Science and Technology*. 2nd Ed. CRC Press. Boca Raton, FL.
- Whitley, E. (2002). The microflora of Blue Stilton cheese. Tesis Doctoral. University of Nottingham. Nottingham, Reino Unido.
- Witthuhn, R.C., Schoeman, T., Britz, T.J. (2005). Characterisation of the microbial population at different stages of Kefir production and Kefir grain mass cultivation. *Int Dairy J*, 383-389.
- Wszolek, M., Kupiec-Teahan., Guldager, H.S., Tamime, A.Y. (2006). Production of kefir, koumiss and other related products. In: *Fermented Milks*. (pp 174-216).
- Yang, C., Wang, D., Zhou, Q., Xu, J. (2015). Bacteremia Due to Vancomycin-Resistant *Leuconostoc lactis* in a Patient with Pneumonia and Abdominal Infection. *AM J MED SCI*, 349(3), 282–283.
- Zambrano-Arias, C.G., y Zambrano-Zambrano, J.R. (2013). Bebida láctea fermentada utilizando lactosuero como sustituto parcial de leche y diferentes estabilizantes comerciales. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, Ecuador.

ANEXOS

a) Modelo lineal general a una temperatura de 8°C

Modelo lineal general: Dureza vs. Queso, Tiempo 8°C

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Queso	fijo	5	1, 2, 3, 4, 5
Tiempo	fijo	3	0, 7, 14

Análisis de varianza para Dureza, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
Queso	4	5231039	5231039	1307760	175.34	0.000
Tiempo	2	3868454	3868454	1934227	259.34	0.000
Queso*Tiempo	8	3422713	3422713	427839	57.36	0.000
Error	45	335627	335627	7458		
Total	59	12857833				

S = 86.3619 R-cuad. = 97.39% R-cuad.(ajustado) = 96.58%

Observaciones inusuales de Dureza

Obs	Dureza	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
2	1706.04	1901.21	43.18	-195.16	-2.61 R
10	319.43	476.36	43.18	-156.93	-2.10 R
28	1416.42	1187.99	43.18	228.43	3.05 R
51	838.76	674.40	43.18	164.36	2.20 R
55	279.04	438.70	43.18	-159.66	-2.13 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	N	Media	Agrupación
1	12	961.1	A
3	12	837.2	B
5	12	444.5	C
2	12	308.8	D
4	12	210.8	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Tiempo	N	Media	Agrupación
0	20	897.4	A
7	20	466.5	B
14	20	293.5	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	Tiempo	N	Media	Agrupación
1	0	4	1901.2	A
3	0	4	1188.0	B
3	7	4	932.8	C
5	0	4	674.4	D
2	0	4	510.1	D E
1	7	4	505.9	D E
1	14	4	476.4	D E
5	7	4	438.7	E F
3	14	4	390.9	E F G
4	7	4	229.3	F G
2	7	4	225.7	F G
5	14	4	220.3	F G
4	0	4	213.3	G
2	14	4	190.4	G
4	14	4	189.7	G

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: Adhesividad vs. Queso, Tiempo

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Queso	fijo	5	1, 2, 3, 4, 5
Tiempo	fijo	3	0, 7, 14

Análisis de varianza para Adhesividad, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
Queso	4	2451.1	2451.1	612.8	2.01	0.109
Tiempo	2	7814.1	7814.1	3907.0	12.82	0.000
Queso*Tiempo	8	4266.5	4266.5	533.3	1.75	0.113
Error	45	13717.5	13717.5	304.8		
Total	59	28249.2				

S = 17.4595 R-cuad. = 51.44% R-cuad.(ajustado) = 36.33%

Observaciones inusuales de Adhesividad

Obs	Adhesividad	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
54	-94.1218	-49.2111	8.7297	-44.9107	-2.97 R
56	-13.6789	-49.2111	8.7297	35.5322	2.35 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	N	Media	Agrupación
4	12	-19.3	A
5	12	-22.2	A
2	12	-25.8	A
3	12	-32.7	A
1	12	-36.4	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Tiempo	N	Media	Agrupación
0	20	-13.8	A
14	20	-26.4	A
7	20	-41.7	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	Tiempo	N	Media	Agrupación
4	0	4	-0.6	A
2	0	4	-4.7	A B
5	0	4	-6.5	A B C
5	14	4	-11.0	A B C
2	14	4	-22.1	A B C
3	14	4	-25.7	A B C
4	7	4	-26.9	A B C
3	0	4	-27.4	A B C
1	0	4	-29.6	A B C
4	14	4	-30.3	A B C
1	7	4	-36.7	A B C
1	14	4	-42.9	A B C
3	7	4	-44.9	B C
5	7	4	-49.2	C
2	7	4	-50.6	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: Elasticidad vs. Queso, Tiempo

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Queso	fijo	5	1, 2, 3, 4, 5
Tiempo	fijo	3	0, 7, 14

Análisis de varianza para Elasticidad, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
Queso	4	0.0068127	0.0068127	0.0017032	3.38	0.017
Tiempo	2	0.0489899	0.0489899	0.0244949	48.68	0.000
Queso*Tiempo	8	0.0386030	0.0386030	0.0048254	9.59	0.000
Error	45	0.0226432	0.0226432	0.0005032		
Total	59	0.1170487				

S = 0.0224317 R-cuad. = 80.65% R-cuad.(ajustado) = 74.64%

Observaciones inusuales de Elasticidad

Obs	Elasticidad	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
33	0.857143	0.786545	0.011216	0.070598	3.63 R
55	0.784053	0.823090	0.011216	-0.039037	-2.01 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	N	Media	Agrupación
3	12	0.8	A
5	12	0.8	A
2	12	0.8	A B
1	12	0.8	A B
4	12	0.8	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Tiempo	N	Media	Agrupación
0	20	0.8	A
7	20	0.8	B
14	20	0.8	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	Tiempo	N	Media	Agrupación
4	0	4	0.9	A
5	0	4	0.8	A B
3	7	4	0.8	A B
1	7	4	0.8	A B
2	0	4	0.8	A B
5	7	4	0.8	A B C
3	0	4	0.8	B C D
2	7	4	0.8	B C D
1	0	4	0.8	B C D
3	14	4	0.8	B C D E
5	14	4	0.8	C D E F
2	14	4	0.8	D E F
1	14	4	0.8	D E F
4	7	4	0.7	E F
4	14	4	0.7	F

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: Cohesividad vs. Queso, Tiempo

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Queso	fijo	5	1, 2, 3, 4, 5
Tiempo	fijo	3	0, 7, 14

Análisis de varianza para Cohesividad, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
Queso	4	0.037422	0.037422	0.009355	5.93	0.001
Tiempo	2	0.042010	0.042010	0.021005	13.32	0.000
Queso*Tiempo	8	0.034519	0.034519	0.004315	2.74	0.015
Error	45	0.070980	0.070980	0.001577		
Total	59	0.184931				

S = 0.0397157 R-cuad. = 61.62% R-cuad.(ajustado) = 49.68%

Observaciones inusuales de Cohesividad

Obs	Cohesividad	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
1	0.606720	0.681262	0.019858	-0.074542	-2.17 R
21	0.461067	0.597128	0.019858	-0.136061	-3.96 R
41	0.699481	0.628857	0.019858	0.070624	2.05 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	N	Media	Agrupación
3	12	0.7	A
5	12	0.7	A B
1	12	0.7	A B
4	12	0.7	B
2	12	0.7	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Tiempo	N	Media	Agrupación
0	20	0.7	A
7	20	0.7	B
14	20	0.7	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	Tiempo	N	Media	Agrupación
3	0	4	0.8	A
3	7	4	0.7	A B
2	0	4	0.7	A B
5	0	4	0.7	A B C
4	0	4	0.7	A B C
1	7	4	0.7	A B C
5	7	4	0.7	A B C
3	14	4	0.7	A B C
1	0	4	0.7	A B C D
1	14	4	0.7	A B C D
5	14	4	0.7	A B C D
2	7	4	0.7	A B C D
4	14	4	0.6	B C D
4	7	4	0.6	C D
2	14	4	0.6	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: Masticabilidad vs. Queso, Tiempo

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Queso	fijo	5	1, 2, 3, 4, 5
Tiempo	fijo	3	0, 7, 14

Análisis de varianza para Masticabilidad, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
Queso	4	1750945	1750945	437736	125.29	0.000
Tiempo	2	1450238	1450238	725119	207.54	0.000
Queso*Tiempo	8	932312	932312	116539	33.36	0.000
Error	45	157223	157223	3494		
Total	59	4290718				

S = 59.1087 R-cuad. = 96.34% R-cuad.(ajustado) = 95.20%

Observaciones inusuales de Masticabilidad

Obs	Masticabilidad	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
3	924.53	1028.95	29.55	-104.42	-2.04 R
4	1165.05	1028.95	29.55	136.10	2.66 R
28	899.74	733.03	29.55	166.71	3.26 R
50	303.85	411.88	29.55	-108.03	-2.11 R
51	554.16	411.88	29.55	142.28	2.78 R
55	147.36	261.89	29.55	-114.54	-2.24 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	N	Media	Agrupación
1	12	525.8	A
3	12	506.7	A
5	12	262.6	B
2	12	172.8	C
4	12	110.6	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Tiempo	N	Media	Agrupación
0	20	524.1	A
7	20	272.4	B
14	20	150.7	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	Tiempo	N	Media	Agrupación
1	0	4	1029.0	A
3	0	4	733.0	B
3	7	4	571.6	C
5	0	4	411.9	D
2	0	4	309.7	D E
1	7	4	301.3	D E
5	7	4	261.9	E F
1	14	4	247.0	E F G
3	14	4	215.5	E F G H
4	0	4	136.7	F G H
2	7	4	121.0	F G H
5	14	4	114.1	F G H
4	7	4	106.1	G H
4	14	4	89.0	H
2	14	4	87.8	H

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: Recuperación vs. Queso, Tiempo

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Queso	fijo	5	1, 2, 3, 4, 5
Tiempo	fijo	3	0, 7, 14

Análisis de varianza para Recuperación, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
Queso	4	0.039374	0.039374	0.009843	22.15	0.000
Tiempo	2	0.099799	0.099799	0.049900	112.30	0.000
Queso*Tiempo	8	0.031504	0.031504	0.003938	8.86	0.000
Error	45	0.019995	0.019995	0.000444		
Total	59	0.190672				

S = 0.0210794 R-cuad. = 89.51% R-cuad.(ajustado) = 86.25%

Observaciones inusuales de Recuperación

Obs	Recuperación	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
37	0.355594	0.395366	0.010540	-0.039772	-2.18 R
49	0.376807	0.415035	0.010540	-0.038228	-2.09 R
55	0.325667	0.370872	0.010540	-0.045205	-2.48 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	N	Media	Agrupación
3	12	0.4	A
5	12	0.4	A B
1	12	0.4	B
2	12	0.3	B
4	12	0.3	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Tiempo	N	Media	Agrupación
0	20	0.4	A
7	20	0.3	B
14	20	0.3	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	Tiempo	N	Media	Agrupación
2	0	4	0.4	A
3	7	4	0.4	A B
5	0	4	0.4	A B
3	0	4	0.4	A B
4	0	4	0.4	A B C
1	0	4	0.4	A B C
1	7	4	0.4	B C D
5	7	4	0.4	B C D
3	14	4	0.3	C D E
5	14	4	0.3	D E F
1	14	4	0.3	D E F G
2	7	4	0.3	E F G
2	14	4	0.3	F G
4	7	4	0.3	G
4	14	4	0.3	G

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

b) Modelo lineal general a una temperatura de 12°C
Modelo lineal general: Dureza vs. Queso, Tiempo 12°C

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Queso	fijo	5	1, 2, 3, 4, 5
Tiempo	fijo	3	0, 7, 14

Análisis de varianza para Dureza, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
Queso	4	1216275	1216275	304069	24.70	0.000
Tiempo	2	1331957	1331957	665979	54.10	0.000
Queso*Tiempo	8	2089760	2089760	261220	21.22	0.000
Error	15	184663	184663	12311		
Total	29	4822655				

S = 110.954 R-cuad. = 96.17% R-cuad.(ajustado) = 92.60%

Observaciones inusuales de Dureza

Obs	Dureza	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
7	922.37	1086.73	78.46	-164.36	-2.09 R
8	1251.09	1086.73	78.46	164.36	2.09 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	N	Media	Agrupación
1	6	984.4	A
2	6	633.6	B
4	6	567.9	B C
5	6	531.6	B C
3	6	376.6	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Tiempo	N	Media	Agrupación
0	10	892.6	A
7	10	583.9	B
14	10	380.0	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	Tiempo	N	Media	Agrupación
1	0	2	1708.2	A
2	0	2	1086.7	B
4	0	2	1033.9	B C
1	7	2	870.1	B C D
5	7	2	720.9	B C D E
5	14	2	636.7	C D E F
2	7	2	507.7	D E F
3	7	2	419.5	E F
4	7	2	401.4	E F
3	0	2	396.8	E F
1	14	2	374.9	E F
3	14	2	313.6	E F
2	14	2	306.5	E F
4	14	2	268.3	F
5	0	2	237.3	F

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: Adhesividad vs. Queso, Tiempo

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Queso	fijo	5	1, 2, 3, 4, 5
Tiempo	fijo	3	0, 7, 14

Análisis de varianza para Adhesividad, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
Queso	4	4471.5	4471.5	1117.9	17.68	0.000
Tiempo	2	7367.3	7367.3	3683.6	58.27	0.000
Queso*Tiempo	8	7607.2	7607.2	950.9	15.04	0.000
Error	15	948.3	948.3	63.2		
Total	29	20394.2				

S = 7.95091 R-cuad. = 95.35% R-cuad. (ajustado) = 91.01%

Observaciones inusuales de Adhesividad

Obs	Adhesividad	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
29	-65.2346	-52.8620	5.6221	-12.3726	-2.20 R
30	-40.4894	-52.8620	5.6221	12.3726	2.20 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	N	Media	Agrupación
2	6	-16.2	A
3	6	-17.8	A
4	6	-24.6	A
1	6	-43.5	B
5	6	-44.1	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Tiempo	N	Media	Agrupación
0	10	-7.4	A
14	10	-37.0	B
7	10	-43.3	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	Tiempo	N	Media	Agrupación
3	0	2	-2.2	A
5	0	2	-4.0	A B
2	0	2	-4.9	A B
2	7	2	-5.2	A B
1	0	2	-10.5	A B C
4	0	2	-15.3	A B C
3	7	2	-17.2	A B C
4	7	2	-28.8	A B C D
4	14	2	-29.8	A B C D
1	14	2	-29.9	A B C D
3	14	2	-34.0	B C D
2	14	2	-38.5	C D
5	14	2	-52.9	D E
5	7	2	-75.4	E F
1	7	2	-90.0	F

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: Elasticidad vs. Queso, Tiempo

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Queso	fijo	5	1, 2, 3, 4, 5
Tiempo	fijo	3	0, 7, 14

Análisis de varianza para Elasticidad, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
Queso	4	0.0240262	0.0240262	0.0060066	6.51	0.003
Tiempo	2	0.0611715	0.0611715	0.0305858	33.13	0.000
Queso*Tiempo	8	0.0402512	0.0402512	0.0050314	5.45	0.002
Error	15	0.0138464	0.0138464	0.0009231		
Total	29	0.1392954				

S = 0.0303825 R-cuad. = 90.06% R-cuad.(ajustado) = 80.78%

Observaciones inusuales de Elasticidad

Obs	Elasticidad	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
23	0.647841	0.581395	0.021484	0.066445	3.09 R
24	0.514950	0.581395	0.021484	-0.066445	-3.09 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	N	Media	Agrupación
2	6	0.8	A
5	6	0.8	A
1	6	0.8	A
3	6	0.8	A B
4	6	0.7	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Tiempo	N	Media	Agrupación
0	10	0.8	A
7	10	0.8	A
14	10	0.7	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	Tiempo	N	Media	Agrupación
5	0	2	0.9	A
4	0	2	0.8	A
2	0	2	0.8	A
2	7	2	0.8	A
3	0	2	0.8	A
1	7	2	0.8	A
1	0	2	0.8	A
4	7	2	0.8	A
5	7	2	0.8	A
3	7	2	0.8	A
2	14	2	0.8	A
5	14	2	0.8	A
1	14	2	0.8	A
3	14	2	0.8	A
4	14	2	0.6	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: Cohesividad vs. Queso, Tiempo

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Queso	fijo	5	1, 2, 3, 4, 5
Tiempo	fijo	3	0, 7, 14

Análisis de varianza para Cohesividad, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
Queso	4	0.078298	0.078298	0.019574	17.59	0.000
Tiempo	2	0.048906	0.048906	0.024453	21.97	0.000
Queso*Tiempo	8	0.103019	0.103019	0.012877	11.57	0.000
Error	15	0.016695	0.016695	0.001113		
Total	29	0.246918				

S = 0.0333614 R-cuad. = 93.24% R-cuad.(ajustado) = 86.93%

Observaciones inusuales de Cohesividad

Obs	Cohesividad	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
23	0.426707	0.371407	0.023590	0.055300	2.34 R
24	0.316107	0.371407	0.023590	-0.055300	-2.34 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	N	Media	Agrupación
5	6	0.7	A
1	6	0.7	A
2	6	0.7	A
3	6	0.7	A
4	6	0.6	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Tiempo	N	Media	Agrupación
0	10	0.7	A
7	10	0.7	A
14	10	0.6	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	Tiempo	N	Media	Agrupación
4	0	2	0.7	A
5	7	2	0.7	A
1	7	2	0.7	A
2	7	2	0.7	A
1	0	2	0.7	A
3	0	2	0.7	A
5	14	2	0.7	A
2	0	2	0.7	A
5	0	2	0.7	A
1	14	2	0.7	A
3	7	2	0.7	A
2	14	2	0.7	A
3	14	2	0.7	A
4	7	2	0.6	A
4	14	2	0.4	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: Masticabilidad vs. Queso, Tiempo

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Queso	fijo	5	1, 2, 3, 4, 5
Tiempo	fijo	3	0, 7, 14

Análisis de varianza para Masticabilidad, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
Queso	4	443226	443226	110806	35.10	0.000
Tiempo	2	612295	612295	306148	96.98	0.000
Queso*Tiempo	8	755224	755224	94403	29.90	0.000
Error	15	47352	47352	3157		
Total	29	1858097				

S = 56.1857 R-cuad. = 97.45% R-cuad.(ajustado) = 95.07%

Observaciones inusuales de Masticabilidad

Obs	Masticabilidad	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
1	1085.95	1000.58	39.73	85.37	2.15 R
2	915.21	1000.58	39.73	-85.37	-2.15 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	N	Media	Agrupación
1	6	570.3	A
2	6	371.6	B
5	6	304.6	B C
4	6	301.0	B C
3	6	207.1	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Tiempo	N	Media	Agrupación
0	10	533.7	A
7	10	334.2	B
14	10	185.0	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	Tiempo	N	Media	Agrupación
1	0	2	1000.6	A
4	0	2	646.8	B
2	0	2	643.3	B
1	7	2	513.9	B C
5	7	2	417.9	C D
5	14	2	351.8	C D E
2	7	2	310.5	C D E
3	0	2	233.5	D E F
3	7	2	229.2	D E F
4	7	2	199.6	D E F
1	14	2	196.5	D E F
2	14	2	161.1	E F
3	14	2	158.7	E F
5	0	2	144.3	E F
4	14	2	56.7	F

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Modelo lineal general: Recuperación vs. Queso, Tiempo

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Queso	fijo	5	1, 2, 3, 4, 5
Tiempo	fijo	3	0, 7, 14

Análisis de varianza para Recuperación, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
Queso	4	0.024589	0.024589	0.006147	18.88	0.000
Tiempo	2	0.069282	0.069282	0.034641	106.42	0.000
Queso*Tiempo	8	0.054544	0.054544	0.006818	20.95	0.000
Error	15	0.004883	0.004883	0.000326		
Total	29	0.153298				

S = 0.0180421 R-cuad. = 96.81% R-cuad.(ajustado) = 93.84%

Observaciones inusuales de Recuperación

Obs	Recuperación	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
7	0.429891	0.394556	0.012758	0.035335	2.77 R
8	0.359221	0.394556	0.012758	-0.035335	-2.77 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	N	Media	Agrupación
5	6	0.4	A
1	6	0.4	A
2	6	0.4	A
3	6	0.4	A
4	6	0.3	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Tiempo	N	Media	Agrupación
0	10	0.4	A
7	10	0.4	B
14	10	0.3	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Queso	Tiempo	N	Media	Agrupación
4	0	2	0.4	A
5	7	2	0.4	A B
3	0	2	0.4	A B
1	0	2	0.4	A B
2	7	2	0.4	A B
2	0	2	0.4	A B
1	7	2	0.4	A B C
5	14	2	0.4	B C D
5	0	2	0.4	B C D
3	7	2	0.4	B C D
1	14	2	0.3	C D
2	14	2	0.3	D
4	7	2	0.3	D
3	14	2	0.3	D
4	14	2	0.1	E

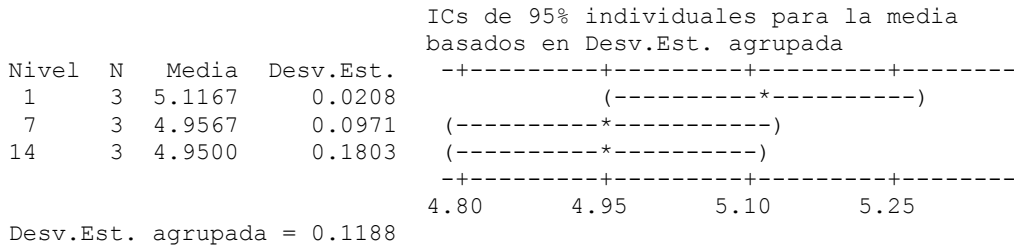
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

c) ANOVA de pH a 8 grados

ANOVA unidireccional: queso 1 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	0.0534	0.0267	1.89	0.231
Error	6	0.0847	0.0141		
Total	8	0.1382			

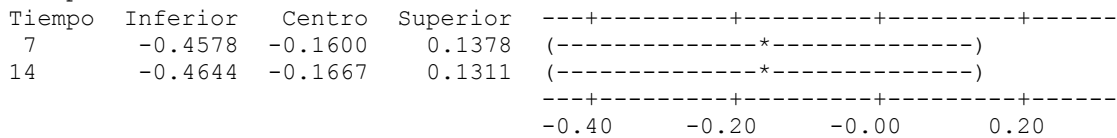
S = 0.1188 R-cuad. = 38.67% R-cuad. (ajustado) = 18.22%



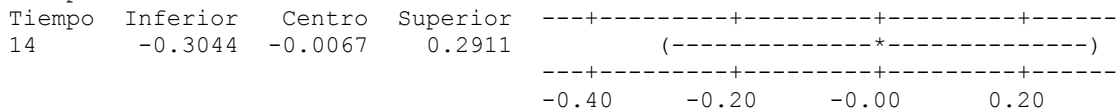
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo

Nivel de confianza individual = 97.80%

Tiempo = 1 restado de:



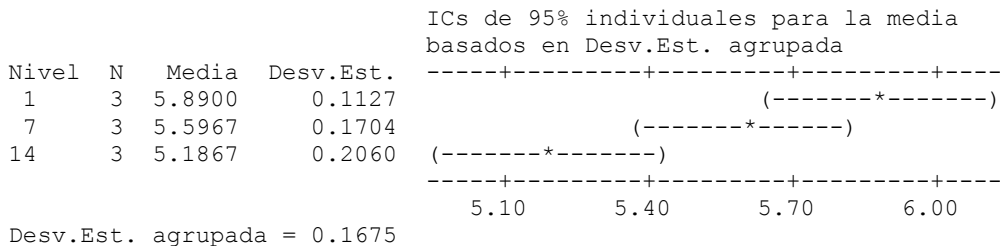
Tiempo = 7 restado de:



ANOVA unidireccional: queso 2 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	0.7488	0.3744	13.35	0.006
Error	6	0.1683	0.0281		
Total	8	0.9172			

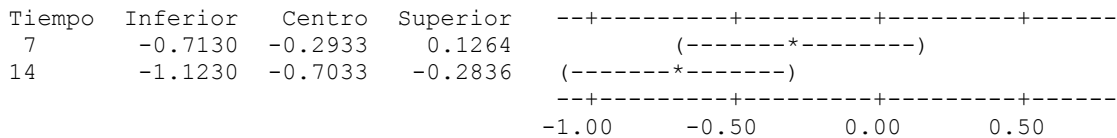
S = 0.1675 R-cuad. = 81.65% R-cuad. (ajustado) = 75.53%



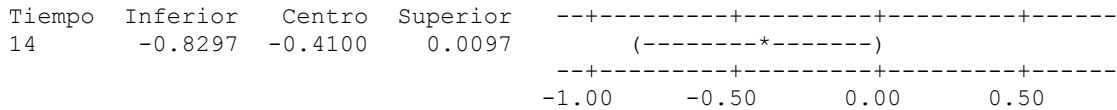
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo

Nivel de confianza individual = 97.80%

Tiempo = 1 restado de:



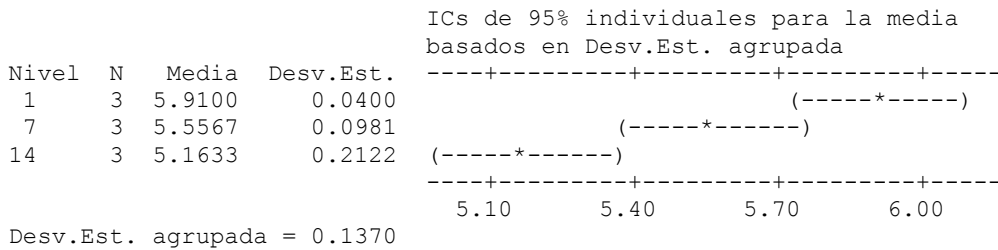
Tiempo = 7 restado de:



ANOVA unidireccional: queso 3 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	0.8371	0.4185	22.32	0.002
Error	6	0.1125	0.0188		
Total	8	0.9496			

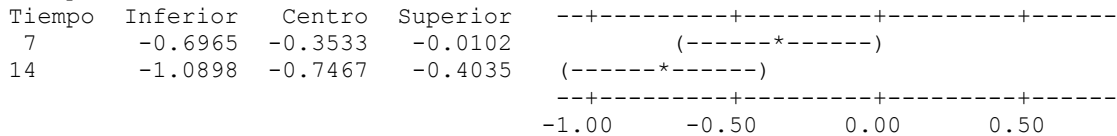
S = 0.1370 R-cuad. = 88.15% R-cuad. (ajustado) = 84.20%



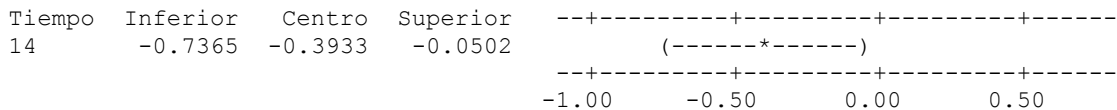
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo

Nivel de confianza individual = 97.80%

Tiempo = 1 restado de:



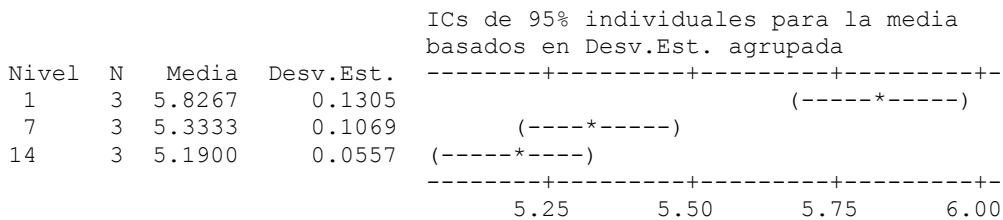
Tiempo = 7 restado de:



ANOVA unidireccional: queso 4 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	0.6693	0.3346	31.80	0.001
Error	6	0.0631	0.0105		
Total	8	0.7324			

S = 0.1026 R-cuad. = 91.38% R-cuad. (ajustado) = 88.51%



Desv.Est. agrupada = 0.1026

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%

Tiempo = 1 restado de:

Tiempo	Inferior	Centro	Superior
7	-0.7504	-0.4933	-0.2363
14	-0.8937	-0.6367	-0.3796

-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----
 (-----*-----)
 (-----*-----)
 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----
 -0.70 -0.35 0.00 0.35

Tiempo = 7 restado de:

Tiempo	Inferior	Centro	Superior
14	-0.4004	-0.1433	0.1137

-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----
 (-----*-----)
 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----
 -0.70 -0.35 0.00 0.35

ANOVA unidireccional: queso 5 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	0.4065	0.2032	10.18	0.012
Error	6	0.1197	0.0200		
Total	8	0.5262			

S = 0.1413 R-cuad. = 77.25% R-cuad.(ajustado) = 69.66%

ICs de 95% individuales para la media
 basados en Desv.Est. agrupada

Nivel	N	Media	Desv.Est.
1	3	5.9433	0.0666
7	3	5.8067	0.0929
14	3	5.4400	0.2163

+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----
 (-----*-----)
 (-----*-----)
 (-----*-----)
 +-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----
 5.25 5.50 5.75 6.00

Desv.Est. agrupada = 0.1413

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%

Tiempo = 1 restado de:

Tiempo	Inferior	Centro	Superior
7	-0.4906	-0.1367	0.2173
14	-0.8573	-0.5033	-0.1494

-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----
 (-----*-----)
 (-----*-----)
 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----
 -0.80 -0.40 -0.00 0.40

Tiempo = 7 restado de:

Tiempo	Inferior	Centro	Superior
14	-0.7206	-0.3667	-0.0127

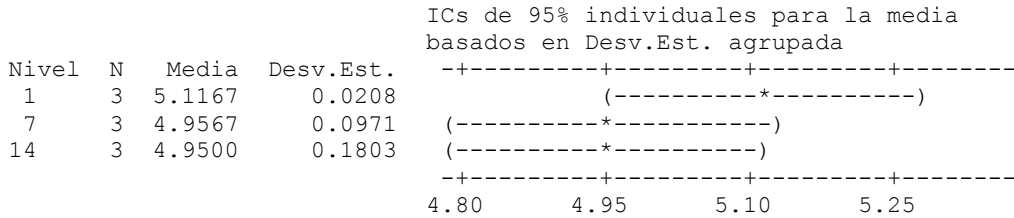
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----
 (-----*-----)
 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----
 -0.80 -0.40 -0.00 0.40

d) ANOVA de pH a 12 grados

ANOVA unidireccional: queso 1_7 vs. Tiempo

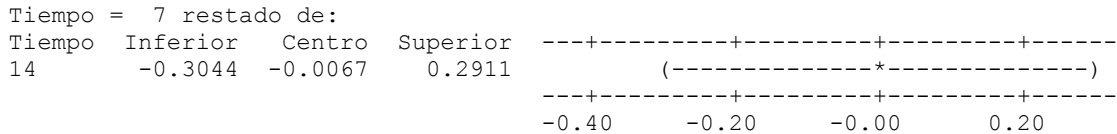
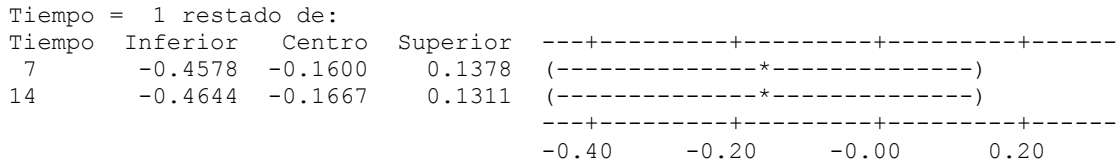
Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	0.0534	0.0267	1.89	0.231
Error	6	0.0847	0.0141		
Total	8	0.1382			

S = 0.1188 R-cuad. = 38.67% R-cuad. (ajustado) = 18.22%



Desv.Est. agrupada = 0.1188

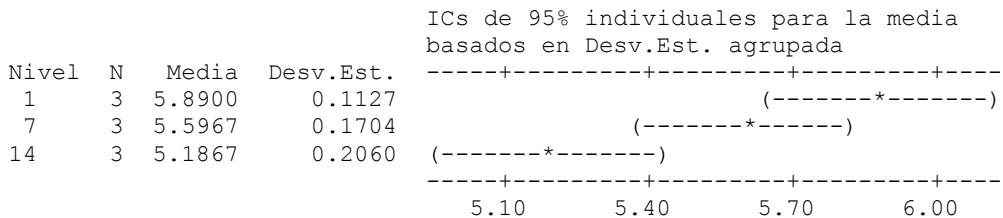
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%



ANOVA unidireccional: queso 2_7 vs. Tiempo

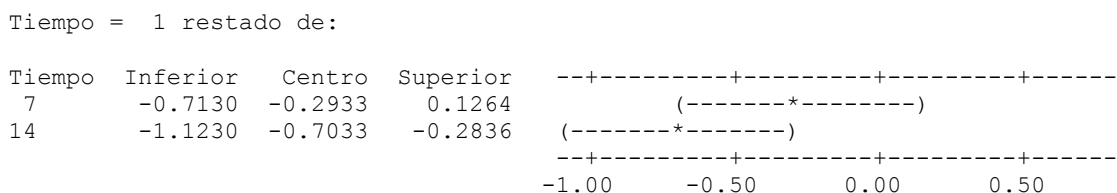
Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	0.7488	0.3744	13.35	0.006
Error	6	0.1683	0.0281		
Total	8	0.9172			

S = 0.1675 R-cuad. = 81.65% R-cuad. (ajustado) = 75.53%

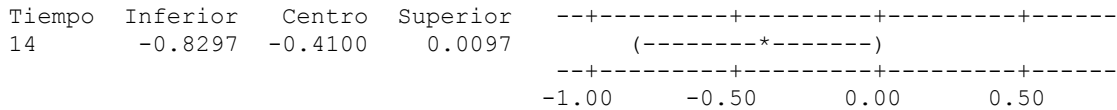


Desv.Est. agrupada = 0.1675

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%



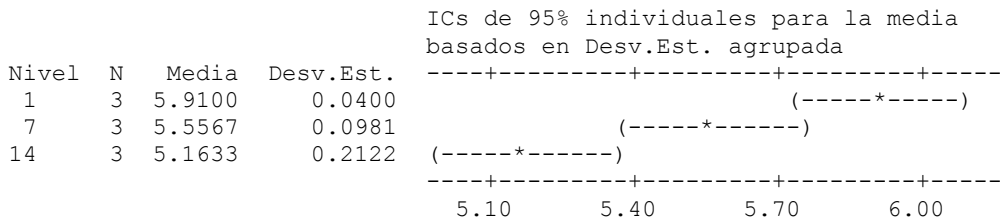
Tiempo = 7 restado de:



ANOVA unidireccional: queso 3_7 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	0.8371	0.4185	22.32	0.002
Error	6	0.1125	0.0188		
Total	8	0.9496			

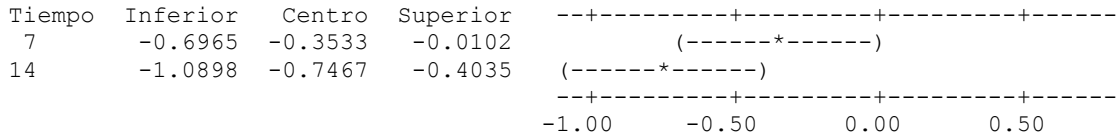
S = 0.1370 R-cuad. = 88.15% R-cuad. (ajustado) = 84.20%



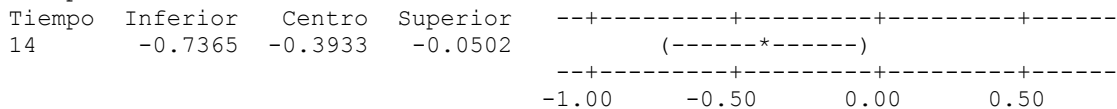
Desv.Est. agrupada = 0.1370

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%

Tiempo = 1 restado de:



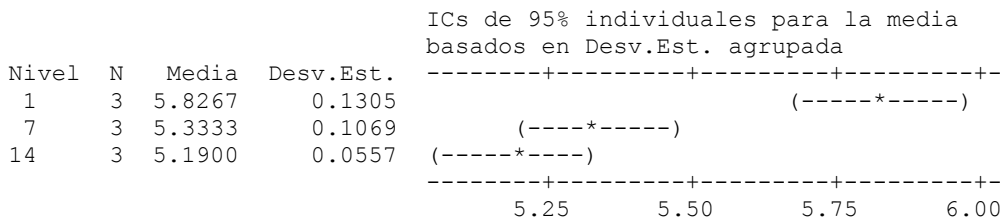
Tiempo = 7 restado de:



ANOVA unidireccional: queso 4_7 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	0.6693	0.3346	31.80	0.001
Error	6	0.0631	0.0105		
Total	8	0.7324			

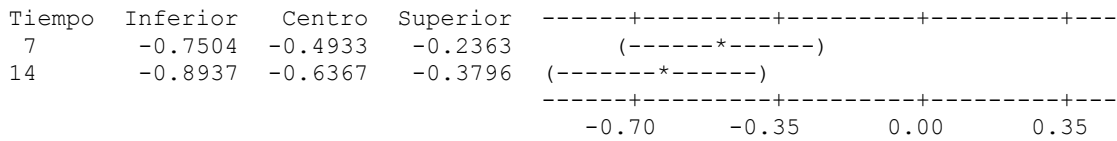
S = 0.1026 R-cuad. = 91.38% R-cuad. (ajustado) = 88.51%



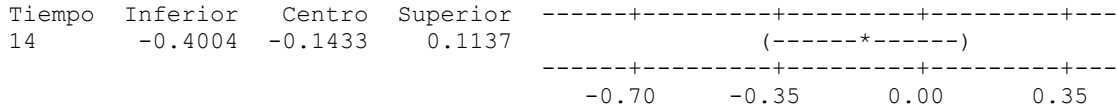
Desv.Est. agrupada = 0.1026

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%

Tiempo = 1 restado de:



Tiempo = 7 restado de:

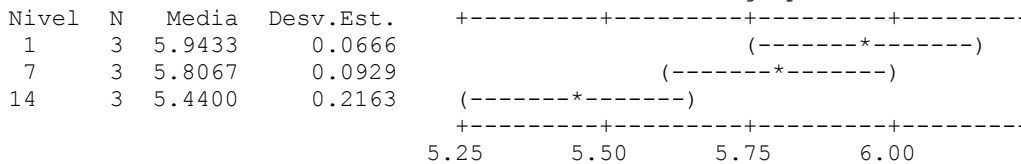


ANOVA unidireccional: queso 5_7 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	0.4065	0.2032	10.18	0.012
Error	6	0.1197	0.0200		
Total	8	0.5262			

S = 0.1413 R-cuad. = 77.25% R-cuad. (ajustado) = 69.66%

ICs de 95% individuales para la media basados en Desv.Est. agrupada



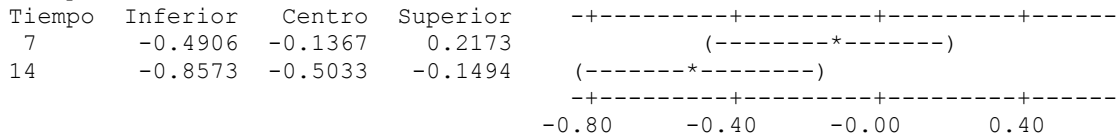
Desv.Est. agrupada = 0.1413

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%

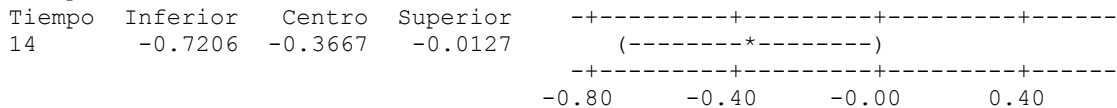
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo

Nivel de confianza individual = 97.80%

Tiempo = 1 restado de:



Tiempo = 7 restado de:

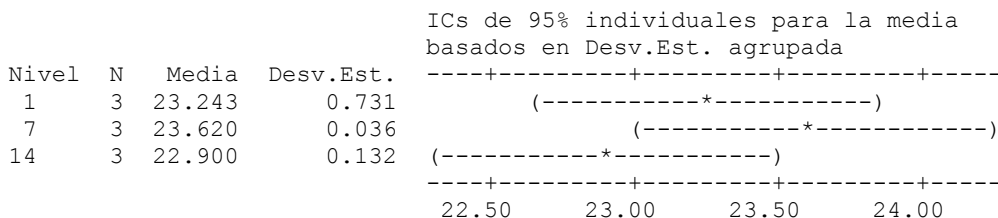


e) ANOVA de parámetro a* a 8 grados

ANOVA unidireccional: queso 1_1 vs. Tiempo

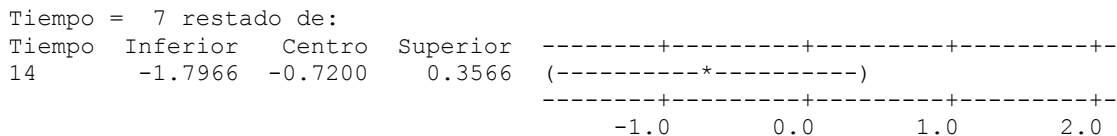
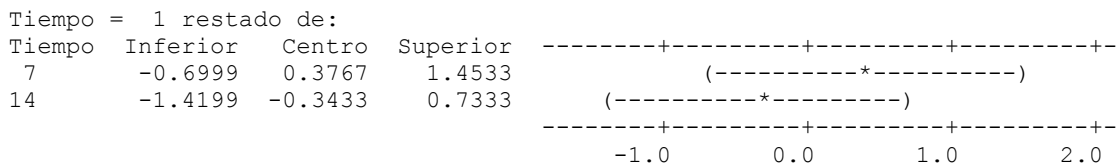
Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	0.778	0.389	2.11	0.203
Error	6	1.108	0.185		
Total	8	1.886			

S = 0.4297 R-cuad. = 41.26% R-cuad. (ajustado) = 21.68%



Desv.Est. agrupada = 0.430

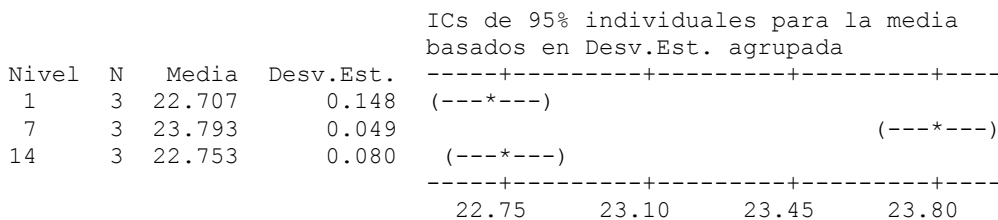
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%



ANOVA unidireccional: queso 2_1 vs. Tiempo

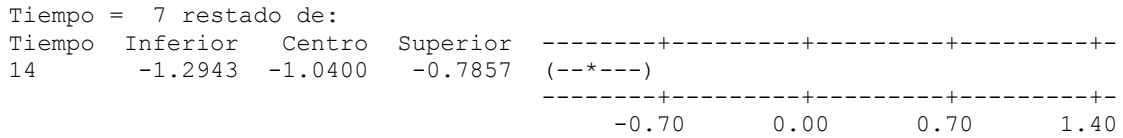
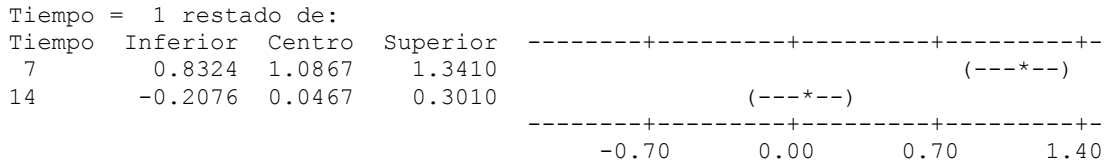
Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	2.2646	1.1323	109.93	0.000
Error	6	0.0618	0.0103		
Total	8	2.3264			

S = 0.1015 R-cuad. = 97.34% R-cuad. (ajustado) = 96.46%



Desv.Est. agrupada = 0.101

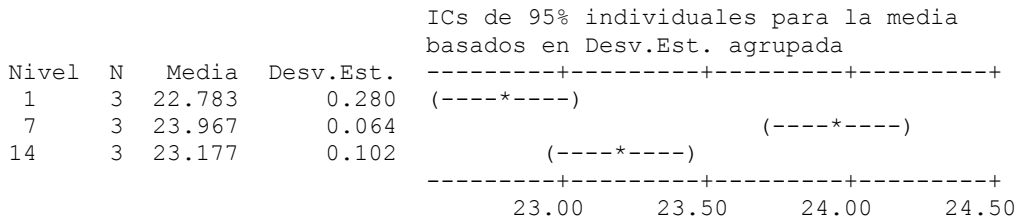
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%



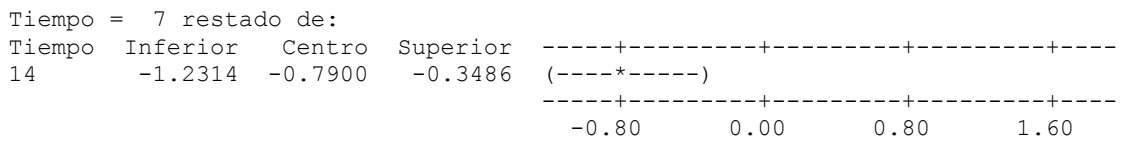
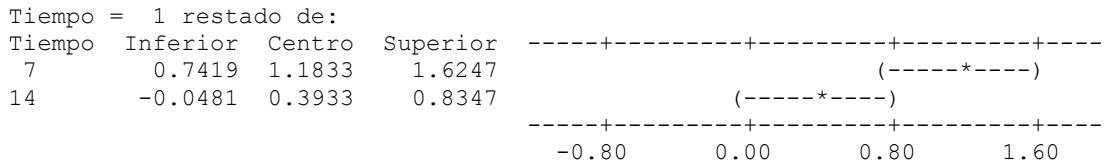
ANOVA unidireccional: queso 3_1 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	2.1791	1.0895	35.11	0.000
Error	6	0.1862	0.0310		
Total	8	2.3653			

S = 0.1762 R-cuad. = 92.13% R-cuad.(ajustado) = 89.50%



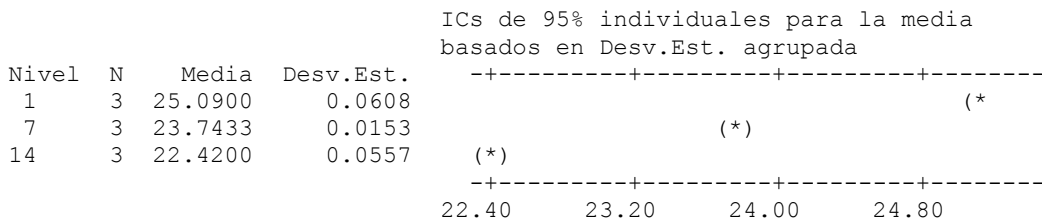
Desv.Est. agrupada = 0.176
 Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%



ANOVA unidireccional: queso 4_1 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	10.69362	5.34681	2280.63	0.000
Error	6	0.01407	0.00234		
Total	8	10.70769			

S = 0.04842 R-cuad. = 99.87% R-cuad.(ajustado) = 99.82%



Desv.Est. agrupada = 0.0484

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%

Tiempo = 1 restado de:

Tiempo	Inferior	Centro	Superior	
7	-1.4680	-1.3467	-1.2253	(*)
14	-2.7913	-2.6700	-2.5487	(*)

-----+-----+-----+-----+-----
 -2.4 -1.2 0.0 1.2

Tiempo = 7 restado de:

Tiempo	Inferior	Centro	Superior	
14	-1.4447	-1.3233	-1.2020	(*)

-----+-----+-----+-----+-----
 -2.4 -1.2 0.0 1.2

ANOVA unidireccional: queso 5_1 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	2.52980	1.26490	273.00	0.000
Error	6	0.02780	0.00463		
Total	8	2.55760			

S = 0.06807 R-cuad. = 98.91% R-cuad. (ajustado) = 98.55%

ICs de 95% individuales para la media
 basados en Desv.Est. agrupada

Nivel	N	Media	Desv.Est.	
1	3	23.4833	0.0777	(--*--)
7	3	23.6533	0.0850	(--*--)
14	3	22.4533	0.0252	(--*--)

-----+-----+-----+-----+-----
 22.40 22.75 23.10 23.45

Desv.Est. agrupada = 0.0681

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%

Tiempo = 1 restado de:

Tiempo	Inferior	Centro	Superior
7	-0.0006	0.1700	0.3406
14	-1.2006	-1.0300	-0.8594

Tiempo	
7	(-*--)
14	(-*--)

-----+-----+-----+-----+-----
 -1.40 -0.70 0.00 0.70

Tiempo = 7 restado de:

Tiempo	Inferior	Centro	Superior
14	-1.3706	-1.2000	-1.0294

Tiempo	
14	(--*--)

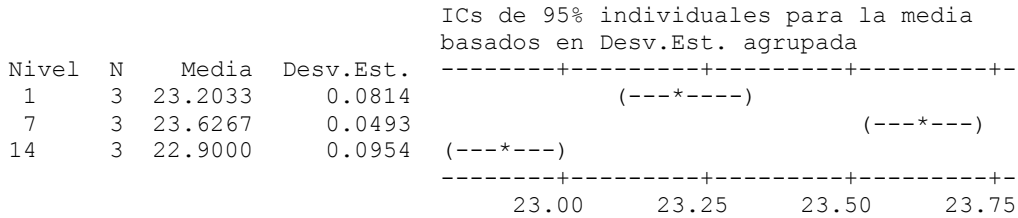
-----+-----+-----+-----+-----
 -1.40 -0.70 0.00 0.70

f) ANOVA de parámetro a* a 12 grados

ANOVA unidireccional: queso 1_2 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	0.79927	0.39963	65.99	0.000
Error	6	0.03633	0.00606		
Total	8	0.83560			

S = 0.07782 R-cuad. = 95.65% R-cuad. (ajustado) = 94.20%



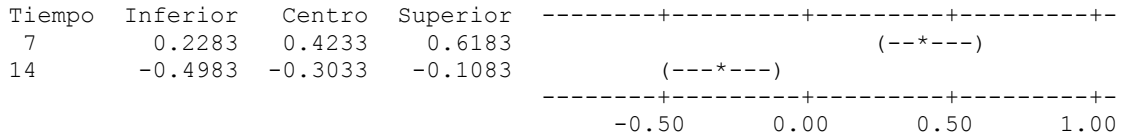
Desv.Est. agrupada = 0.0778

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%

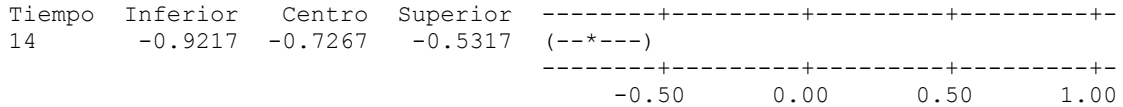
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo

Nivel de confianza individual = 97.80%

Tiempo = 1 restado de:



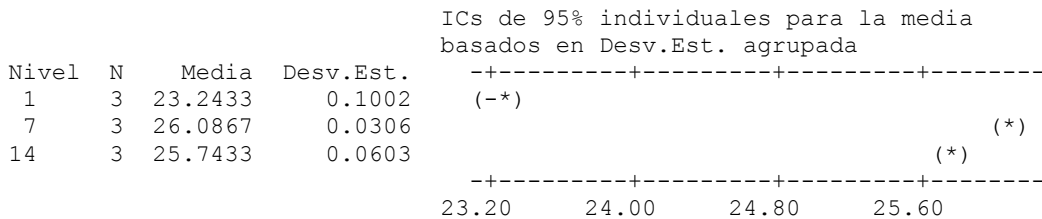
Tiempo = 7 restado de:



ANOVA unidireccional: queso 2_2 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	14.45242	7.22621	1484.84	0.000
Error	6	0.02920	0.00487		
Total	8	14.48162			

S = 0.06976 R-cuad. = 99.80% R-cuad. (ajustado) = 99.73%



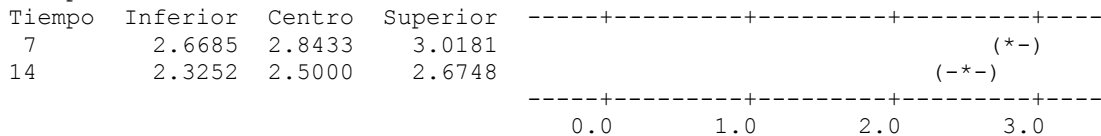
Desv.Est. agrupada = 0.0698

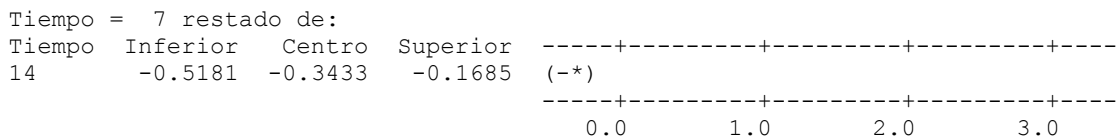
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%

Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo

Nivel de confianza individual = 97.80%

Tiempo = 1 restado de:

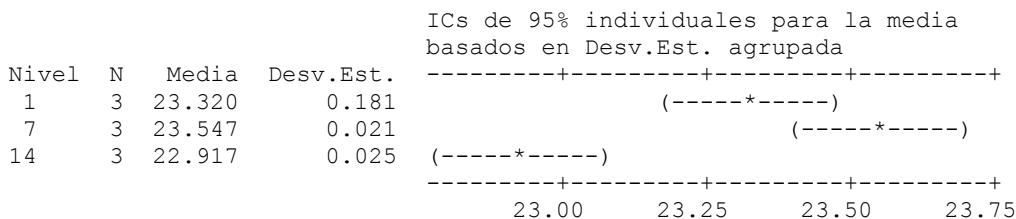




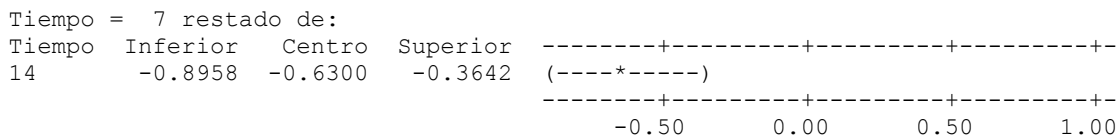
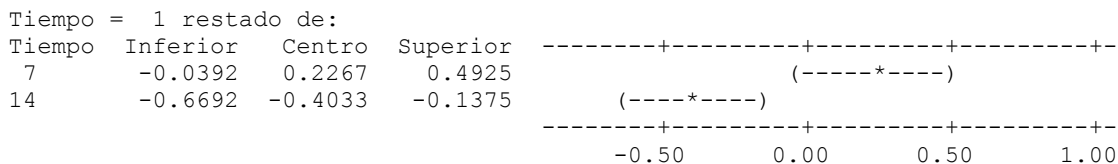
ANOVA unidireccional: queso 3_2 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	0.6110	0.3055	27.14	0.001
Error	6	0.0675	0.0113		
Total	8	0.6785			

S = 0.1061 R-cuad. = 90.05% R-cuad. (ajustado) = 86.73%



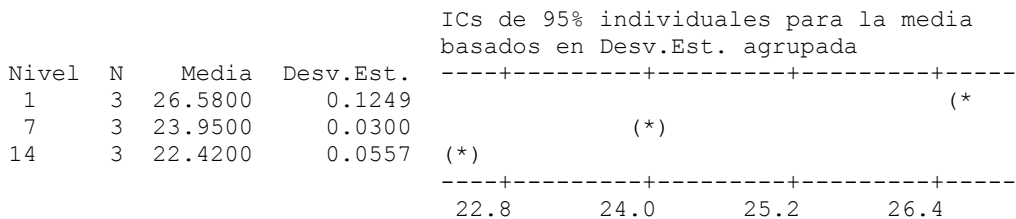
Desv.Est. agrupada = 0.106
 Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%



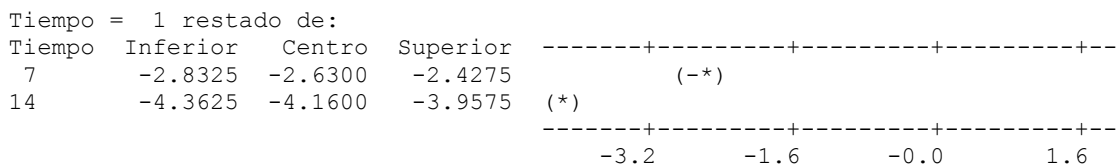
ANOVA unidireccional: queso 4_2 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	26.56340	13.28170	2032.91	0.000
Error	6	0.03920	0.00653		
Total	8	26.60260			

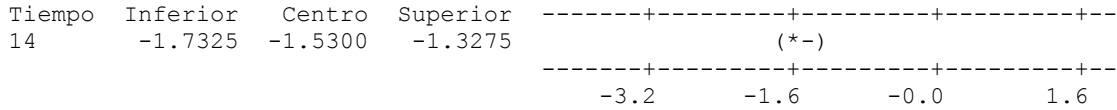
S = 0.08083 R-cuad. = 99.85% R-cuad. (ajustado) = 99.80%



Desv.Est. agrupada = 0.0808
 Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%



Tiempo = 7 restado de:



ANOVA unidireccional: queso 5_2 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	7.79407	3.89703	557.60	0.000
Error	6	0.04193	0.00699		
Total	8	7.83600			

S = 0.08360 R-cuad. = 99.46% R-cuad. (ajustado) = 99.29%

ICs de 95% individuales para la media basados en Desv.Est. agrupada

Nivel	N	Media	Desv.Est.
1	3	23.4767	0.0666
7	3	23.6233	0.0306
14	3	21.5800	0.1249

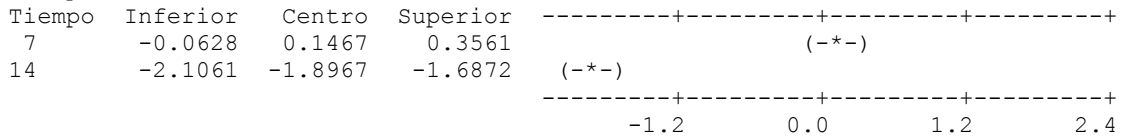
Desv.Est. agrupada = 0.0836

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%

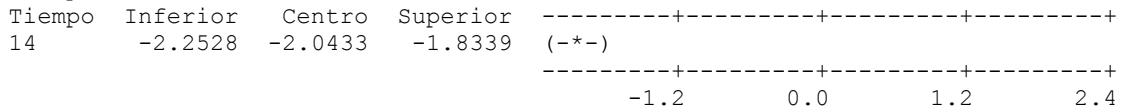
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo

Nivel de confianza individual = 97.80%

Tiempo = 1 restado de:



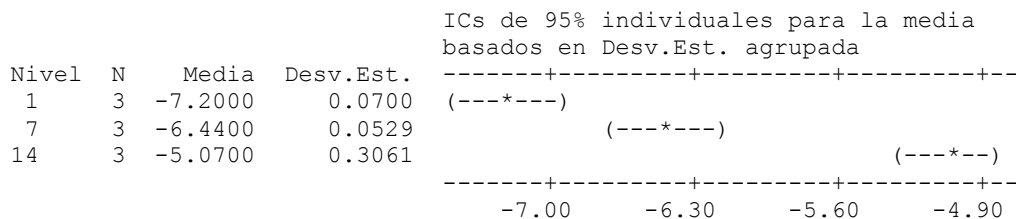
Tiempo = 7 restado de:



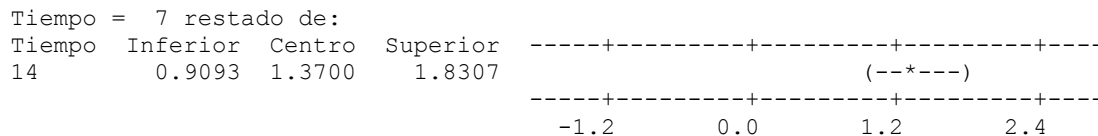
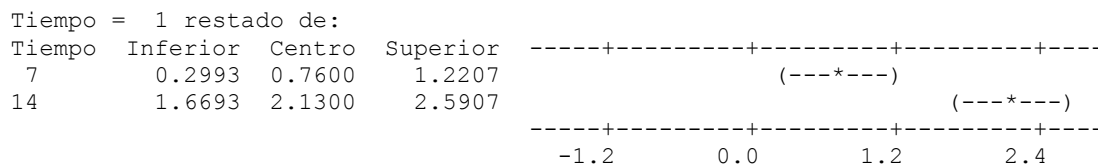
g) ANOVA de parámetro b* a 8 grados
ANOVA unidireccional: queso 1_3 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	6.9914	3.4957	103.42	0.000
Error	6	0.2028	0.0338		
Total	8	7.1942			

S = 0.1838 R-cuad. = 97.18% R-cuad.(ajustado) = 96.24%



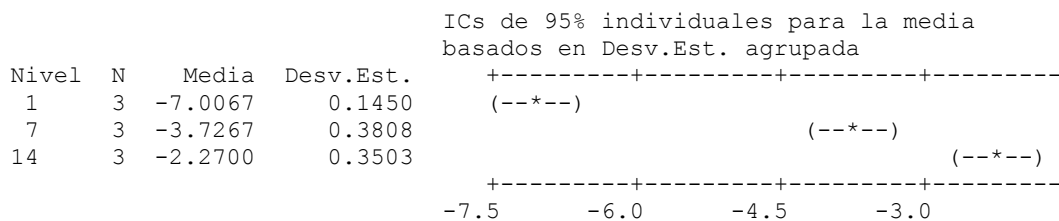
Desv.Est. agrupada = 0.1838
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
Nivel de confianza individual = 97.80%



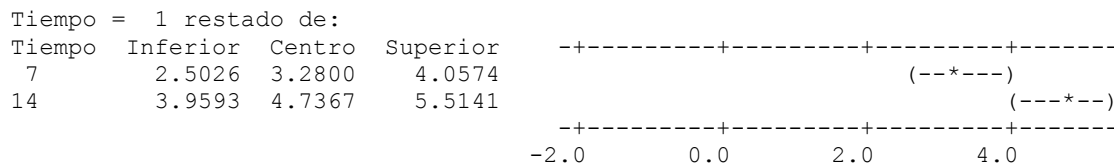
ANOVA unidireccional: queso 2_3 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	35.3163	17.6581	183.45	0.000
Error	6	0.5775	0.0963		
Total	8	35.8938			

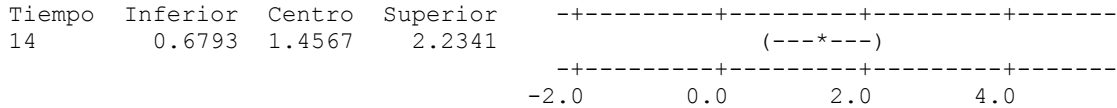
S = 0.3103 R-cuad. = 98.39% R-cuad.(ajustado) = 97.85%



Desv.Est. agrupada = 0.3103
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
Nivel de confianza individual = 97.80%



Tiempo = 7 restado de:

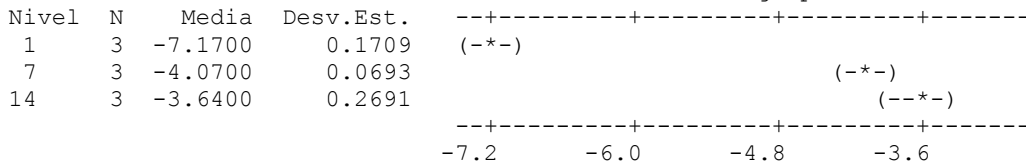


ANOVA unidireccional: queso 3_3 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	22.2558	11.1279	313.76	0.000
Error	6	0.2128	0.0355		
Total	8	22.4686			

S = 0.1883 R-cuad. = 99.05% R-cuad. (ajustado) = 98.74%

ICs de 95% individuales para la media basados en Desv.Est. agrupada



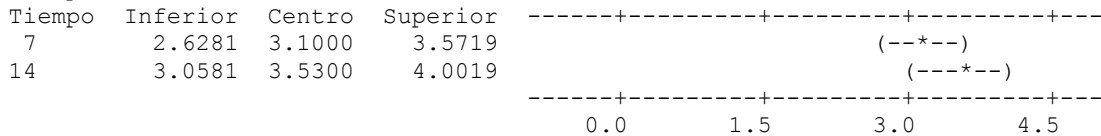
Desv.Est. agrupada = 0.1883

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%

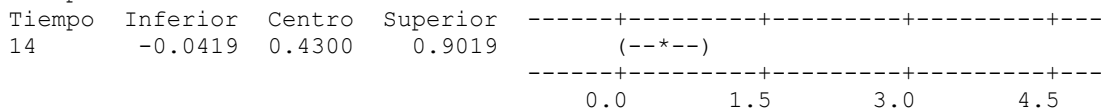
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo

Nivel de confianza individual = 97.80%

Tiempo = 1 restado de:



Tiempo = 7 restado de:

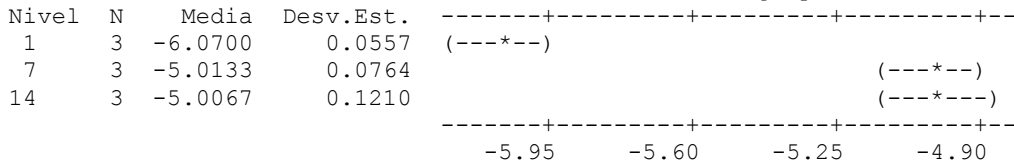


ANOVA unidireccional: queso 4_3 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	2.24727	1.12363	143.04	0.000
Error	6	0.04713	0.00786		
Total	8	2.29440			

S = 0.08863 R-cuad. = 97.95% R-cuad. (ajustado) = 97.26%

ICs de 95% individuales para la media basados en Desv.Est. agrupada

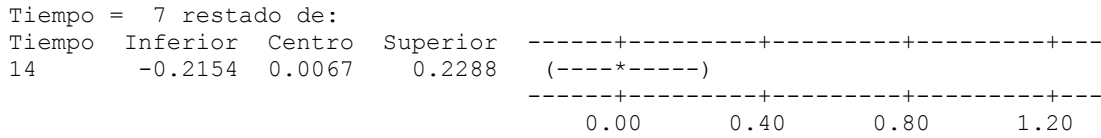
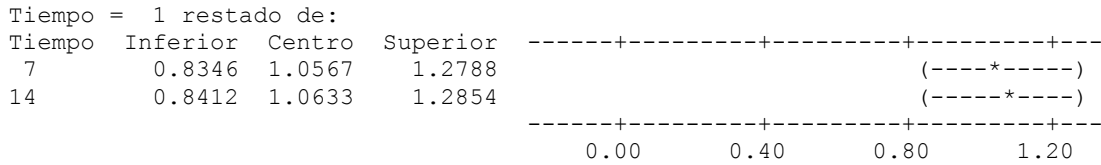


Desv.Est. agrupada = 0.0886

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%

Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo

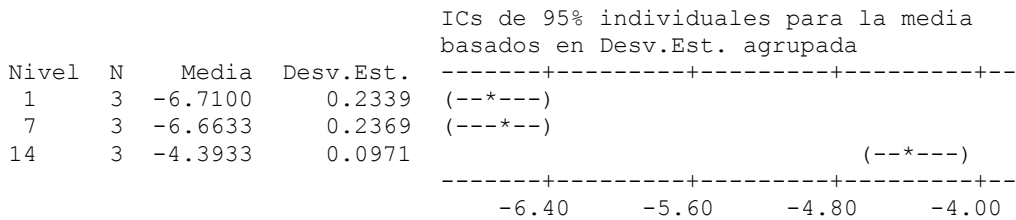
Nivel de confianza individual = 97.80%



ANOVA unidireccional: queso 5_3 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	10.5220	5.2610	131.23	0.000
Error	6	0.2405	0.0401		
Total	8	10.7626			

S = 0.2002 R-cuad. = 97.77% R-cuad. (ajustado) = 97.02%

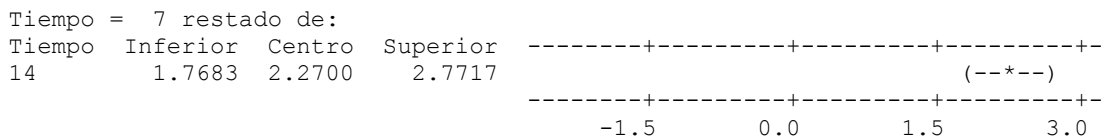
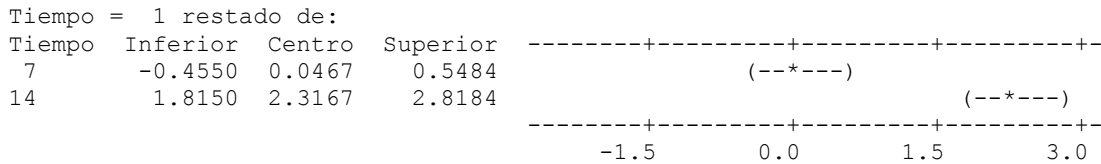


Desv.Est. agrupada = 0.2002

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%

Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo

Nivel de confianza individual = 97.80%



h) ANOVA de parámetro b* a 12 grados

ANOVA unidireccional: queso 1_4 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	11.1889	5.5944	167.55	0.000
Error	6	0.2003	0.0334		
Total	8	11.3892			

S = 0.1827 R-cuad. = 98.24% R-cuad.(ajustado) = 97.65%

ICs de 95% individuales para la media basados en Desv.Est. agrupada

Nivel	N	Media	Desv.Est.
1	3	-7.1500	0.2052
7	3	-6.4233	0.0551
14	3	-4.5067	0.2346

-----+-----+-----+-----+-----
 (---*---) (---*---) (---*---)
 -7.20 -6.40 -5.60 -4.80

Desv.Est. agrupada = 0.1827
 Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%

Tiempo = 1 restado de:

Tiempo	Inferior	Centro	Superior
7	0.2688	0.7267	1.1845
14	2.1855	2.6433	3.1012

-----+-----+-----+-----+-----
 (---*---) (---*---)
 -1.5 0.0 1.5 3.0

Tiempo = 7 restado de:

Tiempo	Inferior	Centro	Superior
14	1.4588	1.9167	2.3745

-----+-----+-----+-----+-----
 (---*---)
 -1.5 0.0 1.5 3.0

ANOVA unidireccional: queso 2_4 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	17.4051	8.7025	96.67	0.000
Error	6	0.5401	0.0900		
Total	8	17.9452			

S = 0.3000 R-cuad. = 96.99% R-cuad.(ajustado) = 95.99%

ICs de 95% individuales para la media basados en Desv.Est. agrupada

Nivel	N	Media	Desv.Est.
1	3	-6.1367	0.4216
7	3	-6.1300	0.2081
14	3	-3.1833	0.2214

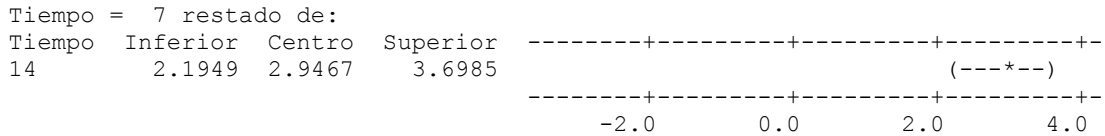
-----+-----+-----+-----+-----
 (---*---) (---*---) (---*---)
 -6.0 -5.0 -4.0 -3.0

Desv.Est. agrupada = 0.3000
 Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%

Tiempo = 1 restado de:

Tiempo	Inferior	Centro	Superior
7	-0.7451	0.0067	0.7585
14	2.2015	2.9533	3.7051

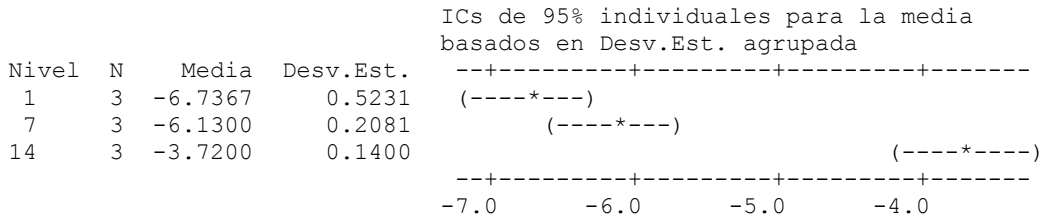
-----+-----+-----+-----+-----
 (---*---) (---*---)
 -2.0 0.0 2.0 4.0



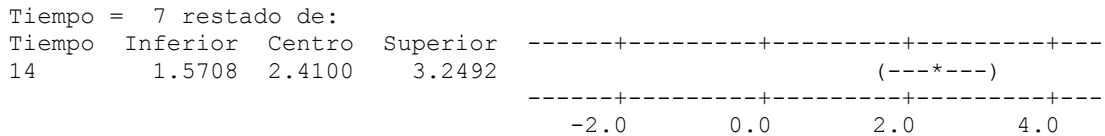
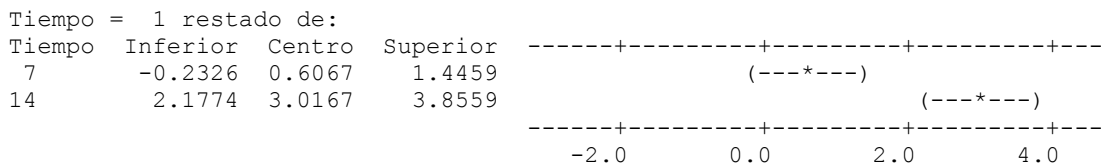
ANOVA unidireccional: queso 3_4 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	15.276	7.638	68.09	0.000
Error	6	0.673	0.112		
Total	8	15.949			

S = 0.3349 R-cuad. = 95.78% R-cuad. (ajustado) = 94.37%



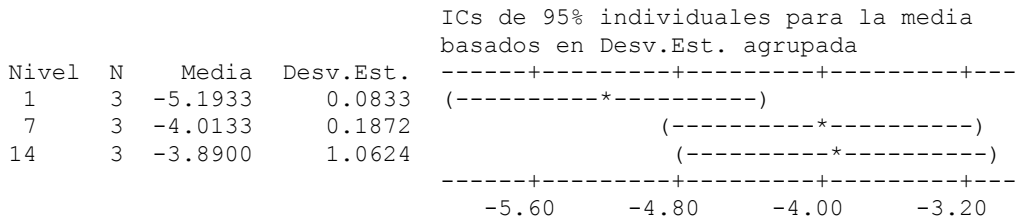
Desv.Est. agrupada = 0.3349
 Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%



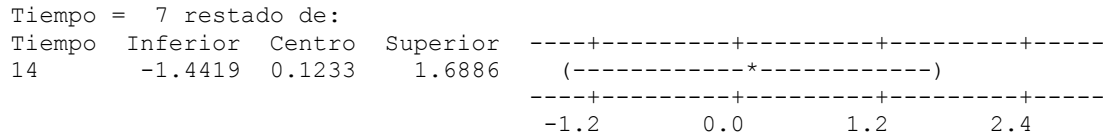
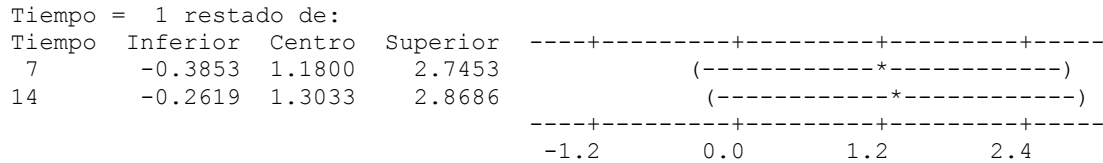
ANOVA unidireccional: queso 4_4 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	3.106	1.553	3.98	0.079
Error	6	2.341	0.390		
Total	8	5.448			

S = 0.6247 R-cuad. = 57.02% R-cuad. (ajustado) = 42.69%



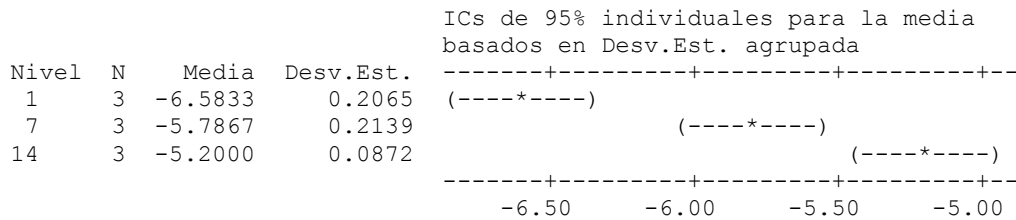
Desv.Est. agrupada = 0.6247
 Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%



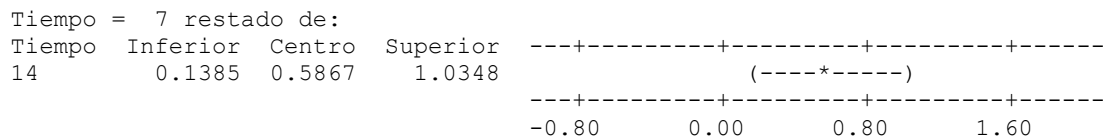
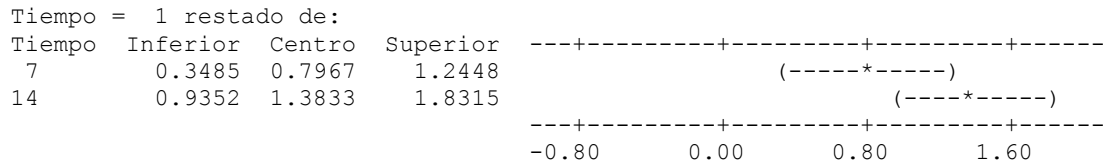
ANOVA unidireccional: queso 5_4 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	2.8925	1.4462	45.21	0.000
Error	6	0.1919	0.0320		
Total	8	3.0844			

S = 0.1789 R-cuad. = 93.78% R-cuad. (ajustado) = 91.70%



Desv.Est. agrupada = 0.1789
 Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%

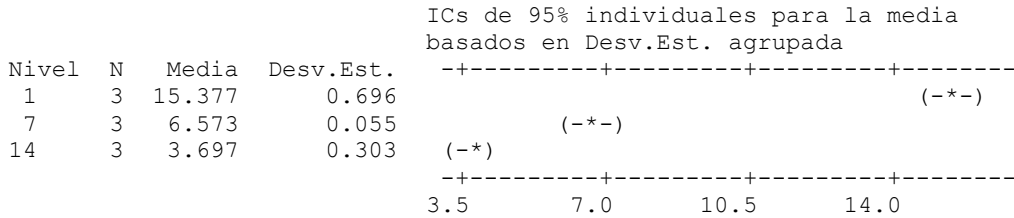


i) ANOVA de Luminosidad a 8 grados

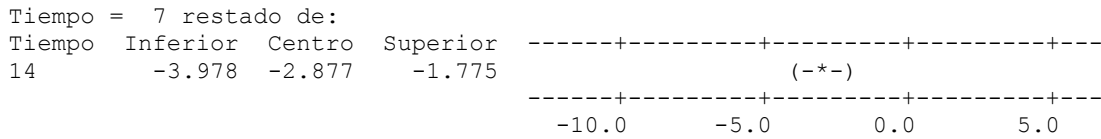
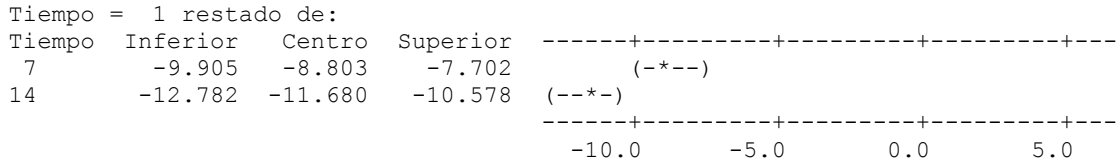
ANOVA unidireccional: queso 1_5 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	222.196	111.098	574.84	0.000
Error	6	1.160	0.193		
Total	8	223.356			

S = 0.4396 R-cuad. = 99.48% R-cuad. (ajustado) = 99.31%



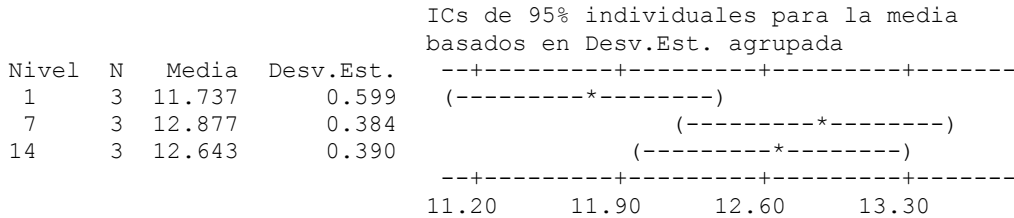
Desv.Est. agrupada = 0.440
 Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%



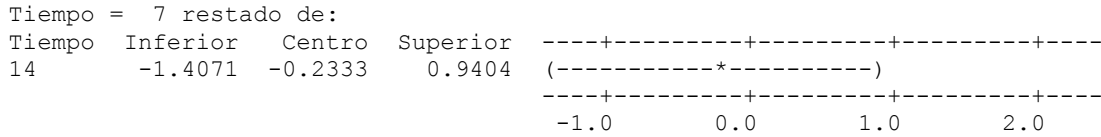
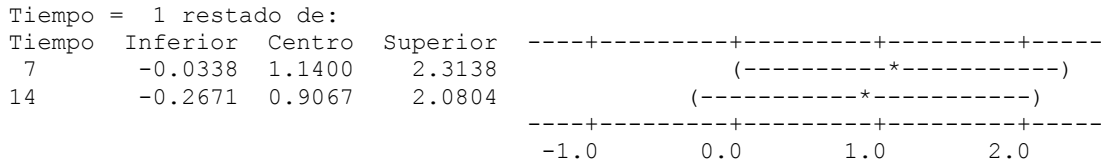
ANOVA unidireccional: queso 2_5 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	2.176	1.088	4.96	0.054
Error	6	1.317	0.219		
Total	8	3.493			

S = 0.4684 R-cuad. = 62.30% R-cuad. (ajustado) = 49.74%



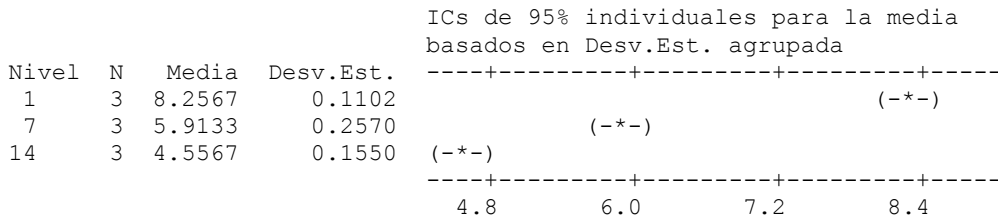
Desv.Est. agrupada = 0.468
 Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%



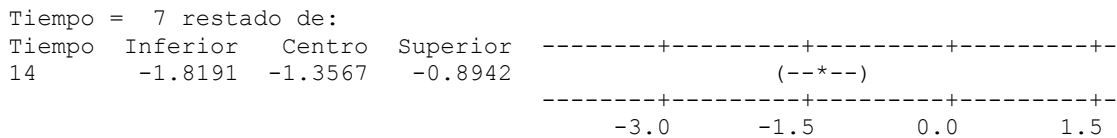
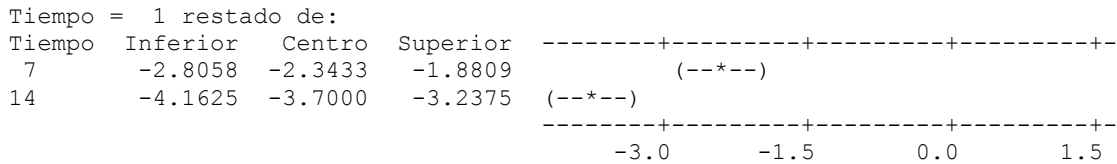
ANOVA unidireccional: queso 3_5 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	21.0218	10.5109	308.54	0.000
Error	6	0.2044	0.0341		
Total	8	21.2262			

S = 0.1846 R-cuad. = 99.04% R-cuad.(ajustado) = 98.72%



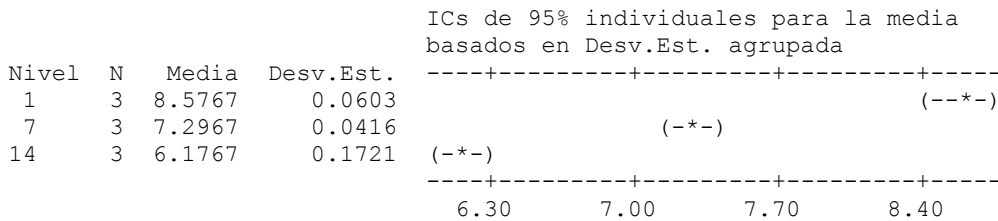
Desv.Est. agrupada = 0.1846
 Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%



ANOVA unidireccional: queso 4_5 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	8.6528	4.3264	370.83	0.000
Error	6	0.0700	0.0117		
Total	8	8.7228			

S = 0.1080 R-cuad. = 99.20% R-cuad.(ajustado) = 98.93%



Desv.Est. agrupada = 0.1080

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%

Tiempo = 1 restado de:

Tiempo	Inferior	Centro	Superior	
7	-1.5506	-1.2800	-1.0094	(-***)
14	-2.6706	-2.4000	-2.1294	(*-)

-----+-----+-----+-----+-----
 -2.4 -1.2 0.0 1.2

Tiempo = 7 restado de:

Tiempo	Inferior	Centro	Superior	
14	-1.3906	-1.1200	-0.8494	(--*-)

-----+-----+-----+-----+-----
 -2.4 -1.2 0.0 1.2

ANOVA unidireccional: queso 5_5 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	93.0682	46.5341	1282.72	0.000
Error	6	0.2177	0.0363		
Total	8	93.2858			

S = 0.1905 R-cuad. = 99.77% R-cuad. (ajustado) = 99.69%

ICs de 95% individuales para la media
 basados en Desv.Est. agrupada

Nivel	N	Media	Desv.Est.	
1	3	12.967	0.249	(*)
7	3	9.080	0.207	(*)
14	3	5.090	0.062	(*)

-----+-----+-----+-----+-----
 5.0 7.5 10.0 12.5

Desv.Est. agrupada = 0.190

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo
 Nivel de confianza individual = 97.80%

Tiempo = 1 restado de:

Tiempo	Inferior	Centro	Superior	
7	-4.3639	-3.8867	-3.4094	(*)
14	-8.3539	-7.8767	-7.3994	(*-)

-----+-----+-----+-----+-----
 -7.0 -3.5 0.0 3.5

Tiempo = 7 restado de:

Tiempo	Inferior	Centro	Superior	
14	-4.4673	-3.9900	-3.5127	(-*)

-----+-----+-----+-----+-----
 -7.0 -3.5 0.0 3.5

j) ANOVA de Luminosidad a 8 grados

ANOVA unidireccional: queso 1_6 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	136.66	68.33	7.33	0.024
Error	6	55.91	9.32		
Total	8	192.57			

S = 3.053 R-cuad. = 70.97% R-cuad.(ajustado) = 61.29%

ICs de 95% individuales para la media basados en Desv.Est. agrupada

Nivel	N	Media	Desv.Est.	
1	3	12.070	5.287	(-----*-----)
7	3	5.250	0.010	(-----*-----)
14	3	2.877	0.029	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----+-----
0.0 5.0 10.0 15.0

Desv.Est. agrupada = 3.053

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%/Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo/ Nivel de confianza individual = 97.80%

Tiempo = 1 restado de:

Tiempo	Inferior	Centro	Superior	
7	-14.469	-6.820	0.829	(-----*-----)
14	-16.842	-9.193	-1.544	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----+-----
-14.0 -7.0 0.0 7.0

Tiempo = 7 restado de:

Tiempo	Inferior	Centro	Superior	
14	-10.022	-2.373	5.276	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----+-----
-14.0 -7.0 0.0 7.0

ANOVA unidireccional: queso 2_6 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	85.289	42.645	175.81	0.000
Error	6	1.455	0.243		
Total	8	86.745			

S = 0.4925 R-cuad. = 98.32% R-cuad.(ajustado) = 97.76%

ICs de 95% individuales para la media basados en Desv.Est. agrupada

Nivel	N	Media	Desv.Est.	
1	3	11.627	0.817	(--*-)
7	3	5.897	0.219	(--*-)
14	3	4.517	0.110	(--*-)

-----+-----+-----+-----+-----
5.0 7.5 10.0 12.5

Desv.Est. agrupada = 0.493

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%/ Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo/ Nivel de confianza individual = 97.80%

Tiempo = 1 restado de:

Tiempo	Inferior	Centro	Superior	
7	-6.9641	-5.7300	-4.4959	(---*---)
14	-8.3441	-7.1100	-5.8759	(---*---)

-----+-----+-----+-----+-----
-6.0 -3.0 0.0 3.0

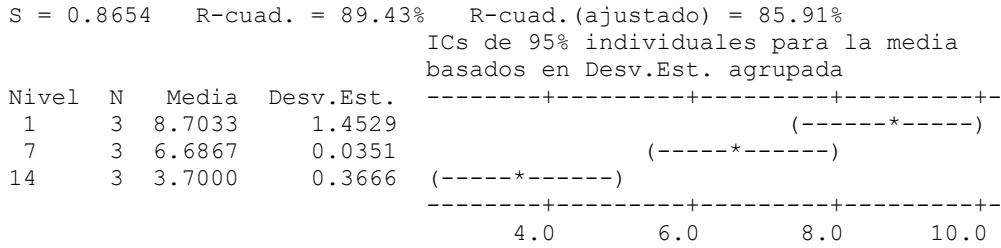
Tiempo = 7 restado de:

Tiempo	Inferior	Centro	Superior	
14	-2.6141	-1.3800	-0.1459	(---*---)

-----+-----+-----+-----+-----
-6.0 -3.0 0.0 3.0

ANOVA unidireccional: queso 3_6 vs. Tiempo

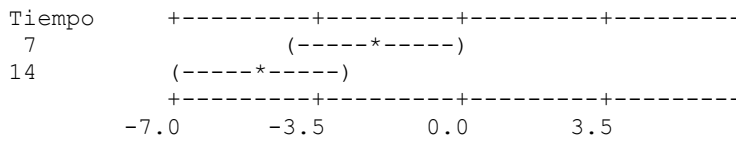
Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	38.020	19.010	25.38	0.001
Error	6	4.493	0.749		
Total	8	42.514			



Desv.Est. agrupada = 0.8654
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%/ Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo/ Nivel de confianza individual = 97.80%

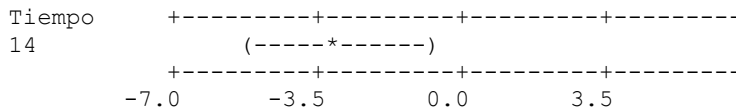
Tiempo = 1 restado de:

Tiempo	Inferior	Centro	Superior
7	-4.1851	-2.0167	0.1517
14	-7.1717	-5.0033	-2.8349



Tiempo = 7 restado de:

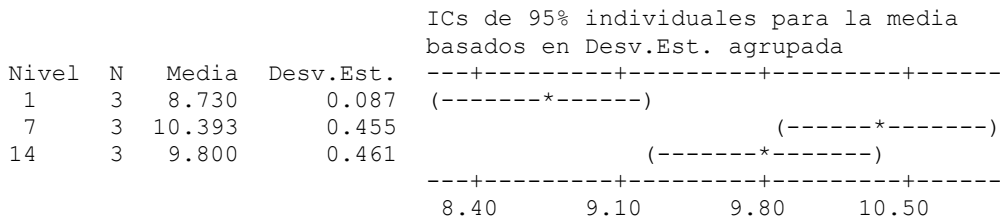
Tiempo	Inferior	Centro	Superior
14	-5.1551	-2.9867	-0.8183



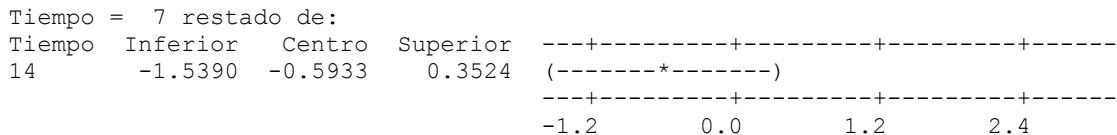
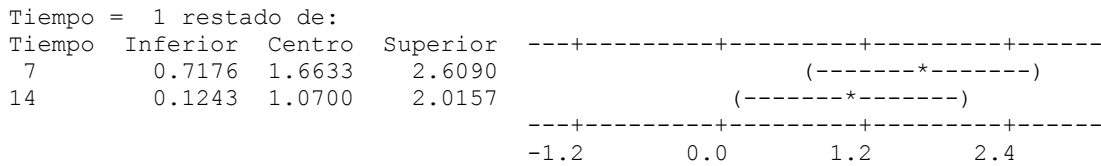
ANOVA unidireccional: queso 4_6 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	4.264	2.132	14.97	0.005
Error	6	0.855	0.142		
Total	8	5.118			

S = 0.3774 R-cuad. = 83.30% R-cuad.(ajustado) = 77.74%



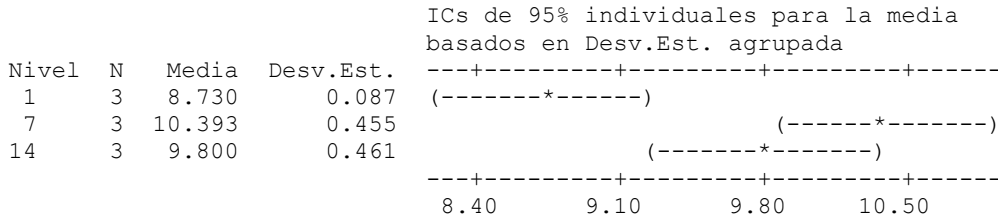
Desv.Est. agrupada = 0.377
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%/ Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo/ Nivel de confianza individual = 97.80%



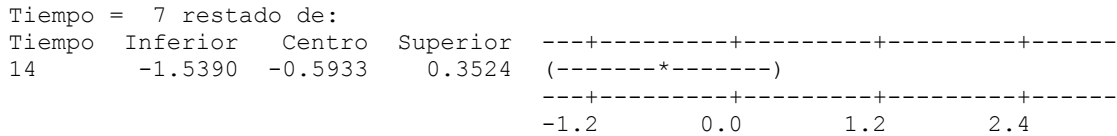
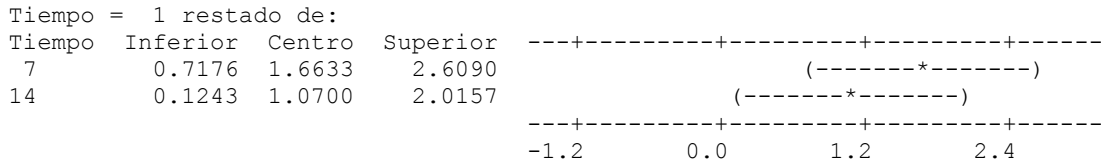
ANOVA unidireccional: queso 4_6 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	4.264	2.132	14.97	0.005
Error	6	0.855	0.142		
Total	8	5.118			

S = 0.3774 R-cuad. = 83.30% R-cuad. (ajustado) = 77.74%



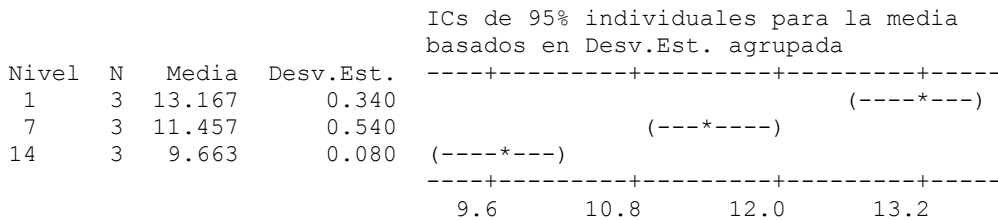
Desv.Est. agrupada = 0.377
 Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%/ Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo/ Nivel de confianza individual = 97.80%



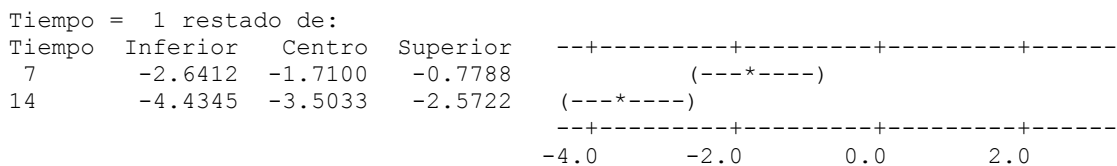
ANOVA unidireccional: queso 5_6 vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tiempo	2	18.413	9.207	66.67	0.000
Error	6	0.829	0.138		
Total	8	19.242			

S = 0.3716 R-cuad. = 95.69% R-cuad. (ajustado) = 94.26%



Desv.Est. agrupada = 0.372
 Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%/ Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Tiempo/ Nivel de confianza individual = 97.80%



Tiempo = 7 restado de:

