

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISION DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS



Aislamiento de *Penicillium sp.* de muestras de queso y requesón para el desarrollo de nuevos productos lácteos.

Por:

MAGDALENA SANLUIS SANLUIS

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Saltillo, Coahuila, México

Mayo 2024

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISION DE CIENCIA ANIMAL

Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos

Aislamiento de *Penicillium sp.* de muestras de queso y requesón para el desarrollo de nuevos productos lácteos.

Por:

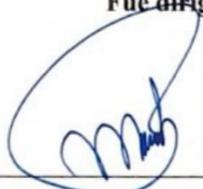
MAGDALENA SANLUIS SANLUIS

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Fue dirigida y aprobada por el siguiente comité Asesor:



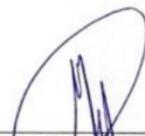
Dr. Mario Alberto Cruz Hernández
Director



M.C. Mildred Inna Marcela Flores Verastegui
Asesor



Dra. Ruth Elizabeth Belmares Cerda
Asesor



Dra. Maria Elena Castelo Mejía



M.C. Pedro Carrillo López
Coordinador de la División de Ciencia Animal



Saltillo, Coahuila, México

Mayo 2024

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISION DE CIENCIA ANIMAL

Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos

Aislamiento de *Penicillum sp.* de muestras de queso y requesón para el desarrollo de nuevos productos lácteos.

Por:

MAGDALENA SANLUIS SANLUIS

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

APROBADA



Dr. Mario Alberto Cruz Hernández
Presidente



M.C. Mildred Inna Marcela Flores Verastegui
Vocal



Dra. Ruth Elizabeth Belmares Cerda
Vocal



Dra. María Elena Castelo Mejía
Vocal

Saltillo, Coahuila, México

Mayo 2024

AGRADECIMIENTOS

Agradezco:

A Dios por permitirme alcanzar este momento importante, por cuidarme y protegerme a lo largo de esta aventura que tanto anhelaba, y que ahora marca el final de mi carrera profesional.

A mi querida Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por brindarme la oportunidad de mi formación profesional, a los profesores que formaron parte de la licenciatura de la carrera y a las amistades que he conocido estos 5 años de estudio.

Al Dr. Mario Alberto Cruz Hernández por su paciencia y apoyo continuo durante la elaboración de este proyecto, así como por compartir sus consejos y conocimientos, y por confiar en mí para llevarlo a cabo.

A mis amigas Rosa Isela Nopala Timoteo y Natalia Lizeth Ventura Sánchez por su constante apoyo incondicional y por compartir cada experiencia a mi lado. Así mismo, agradezco a Sergio Yovany Pulido Núñez por su orientación y dedicación durante todo el proceso de investigación y redacción. Gracias por todo.

DEDICATORIA

A mi familia, especialmente a mi abuela Magdalena Huerta Vázquez, quien siempre me alentó a esforzarme a pesar de la distancia. Aunque ya no está presente, le dedico este logro es su honor. Agradezco a mis padres, Salatiel Sanluis Huerta y Lucina Sanluis Padilla, por su apoyo y confianza en mí para culminar mis estudios. También a mis hermanos Rafael S., Salatiel S., y Jesús S. Agradezco a mis tíos y tías por su apoyo emocional constante a lo largo de mi carrera.

Gracias por todo lo que me brindaron durante mi estancia en la universidad, lo cual me ha permitido alcanzar el profesionalismo que estoy a punto de lograr.

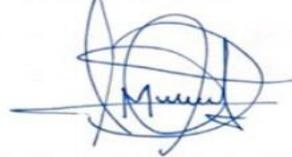
DECLARATORIA DE NO PLAGIO

DECLARO QUE:

El estudio titulado "Aislamiento de *Penicillum sp.* de muestras de queso y requesón para el desarrollo de nuevos productos lácteos" es un trabajo original en el que no se han utilizado sin permiso ideas, citas, o ilustraciones de otras fuentes como tesis, trabajos académicos, artículos, o memorias, ya sea en formato digital o impreso, sin mencionar claramente su origen o autor.

Por lo tanto, se invita al lector a verificar la originalidad del contenido, recordando que cualquier forma de plagio o violación de derechos de autor será sancionada por el Comité Editorial y, en su caso, legalmente, lo que resultaría en la invalidación del presente documento académico, sin posibilidad de aprobación ni reenvío.

ATENTAMENTE



Magdalena Sanluis Sanluis

RESUMEN

La leche ha sido un alimento esencial desde que comenzaron a domesticar animales productores de leche. La leche de cabra, proporciona grasas y proteínas de alta calidad. Destaca por su contenido de calcio y vitaminas, esenciales para la salud ósea y la prevención de enfermedades como la osteoporosis. Además, es rica en vitaminas B2 o riboflavina. Algunos derivados de la leche de cabra como son el requesón, quesos fermentados, apreciados por su sabor y propiedades nutricionales, derivadas de la actividad microbiana durante su elaboración. La industria láctea de quesos ha experimentado un crecimiento notable a nivel mundial, con un impacto económico significativo. Este proyecto tiene como objetivo desarrollar nuevos productos lácteos. El objetivo de este proyecto es analizar muestras de queso y requesón preparados de forma tradicional para identificar cepas de *Penicillium*. Esta investigación se realizó en el departamento de ciencia y tecnología de alimentos, donde se realizaron pruebas de azúcares, pH y acidez para detectar la presencia y calidad del hongo, con la meta de desarrollar un producto de excelente calidad.

ABSTRACT

Milk has been an essential food since they began domesticating milk-producing animals. Goat's milk provides high-quality fats and proteins. It stands out for its calcium and vitamin content, essential for bone health and the prevention of diseases such as osteoporosis. In addition, it is rich in vitamins B2 or riboflavin. Some derivatives of goat's milk such as cottage cheese, fermented cheeses, appreciated for their flavor and nutritional properties, derived from the microbial activity during their production. The cheese dairy industry has experienced remarkable growth globally, with a significant economic impact. This project aims to develop new dairy products. The aim of this project is to analysis samples of traditionally prepared cheese and cottage cheese to identify *Penicillium* strains. This research was carried out in the department of food science and technology, where sugar, pH and acidity tests were carried out to detect the presence and quality of the fungus, with the goal of developing a product of excellent quality.

INDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	8
1.1. OBJETIVOS	10
1.1.1. Objetivo General	10
1.1.2. Objetivos específicos.....	10
2. JUSTIFICACIÓN	11
3. REVISION DE LITERATURA	12
3.1. Leche de Cabra	12
3.1.1. Queso de Cabra	13
3.1.2. Requesón	14
3.2. Beneficios del Queso	15
3.3. Composición del Queso	16
3.3.1. Valor nutricional del queso	16
3.3.2. Contenido de grasa	16
3.3.3. Contenido en minerales y vitaminas	17
3.3.4. Contenido de proteínas.....	18
3.3.5. Contenido de lactosa	19
3.4. Tipos	19
3.4.1. Quesos blandos madurados	19
3.4.2. Feta	20
3.4.3. Brie	20
3.4.4. Camembert	21
3.4.5. Serra da Estrela.....	21
3.4.6. Quesos Fermentado	22
3.4.7. Beneficios de los alimentos fermentados	23
3.4.8. Transformación de los componentes de los alimentos.....	24

3.4.9.	Microorganismos de productos lácteos fermentados	24
3.5.	<i>Penicillium</i> sp	25
3.5.1.	Tipos de <i>Penicillium</i> en quesos.....	27
3.5.2.	<i>Penicillium roqueforti</i>	27
3.5.3.	Modo de empleo de <i>Penicillium roqueforti</i>	28
4.	MATERIALES Y METODOS	29
4.1.	Recolección de las muestras.	29
4.1.1.	Tratamiento de las muestras.....	30
4.2.	Elaboración de los medios de cultivo	30
4.2.1.	Aislamiento de los microorganismos del queso.....	31
4.2.2.	Selección	31
4.2.3.	Evaluación microscópica.....	31
4.2.4.	Determinación de las características de <i>Penicillium</i>	32
4.2.5.	Conservación de los hongos.....	33
4.2.6.	Cinética de producción de hongos	33
4.2.7.	Azucares Totales	34
4.2.8.	pH.....	34
4.2.9.	Acidez Titulable	34
4.2.10.	Color.....	35
5.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	36
5.1.	Azucares Totales.....	36
5.2.	pH.....	37
5.3.	Acidez Titulable.....	39
5.4.	Color	41
6.	CONCLUSIONES	45

7. **LITERATURA CITADA** 46

Índice de Tablas

Tabla 1 Composición química media de la leche de diferentes especies (por 100g de leche fresca)	12
Tabla 2. Tabla de medio de cultivo PDA.	30
Tabla 3. Tabla de medios de Cultivo Czapec Dox	30

Índice de figuras

Figura 1. Queso fresco artesanal de cabra.	14
Figura 2. Requesón artesanal natural.....	15
Figura 3. Queso feta	20
Figura 4. Queso Brie y Camembert.....	21
Figura 5. Queso Serra da Estrela	22
Figura 6. Panorama general de la naturaleza transformadora de los alimentos fermentados (Marco et al., 2017)	23
Figura 7. Patrones de ramificación de conidióforos en <i>Penicillium</i> . A, Conidióforos con fialidas solitarias. B. Monoverticilado. C. Divaricar. D, E, Biverticilado. F.Terverticilado.G. Cuaterverticilado. (Visagie et al., 2014).....	26
Figura 8. Ejemplos de variabilidad de la morfología macroscópica en <i>Penicillium roqueforti</i> (Coton et al., 2020).....	28
Figura 9. Recolección de muestras del crecimiento del hongo.	29
Figura 10. Selección del crecimiento de <i>Penicillium</i> en medio de cultivo Czapek Dox.....	31
Figura 11. Evaluación microscopia de crecimiento del hongo.....	32
Figura 12. Determinación de características de <i>Penicillium</i>	32
Figura 13. Conservación de Hongo en cajas Petri a temperatura de 8°C.....	33
Figura 14. Cinética de producción de hongo.....	34
Figura 15. Diferencia de azúcares en la inoculación de cepa del queso a diferentes temperaturas.....	
Figura 16. Diferencia de azúcares en la inoculación de cepa del requesón a diferentes temperaturas.....	37
Figura 17. Diferencia de pH en la inoculación de cepa del queso a diferentes temperaturas.	
Figura 18. Diferencia de pH en la inoculación de cepa del requesón a diferentes temperaturas.....	
Figura 19. Comparación de acidez en inoculación de queso a diferentes temperaturas.	
Figura 20. Comparación de acidez en inoculación de requesón a diferentes temperaturas.	
Figura 21. Color en la inoculación del crecimiento de hongo <i>Penicillium</i> del queso a 8°C	
Figura 22. Color en la inoculación del crecimiento de hongo <i>Penicillium</i> del queso a 28°C ..	

Figura 23.Color en la inoculación del crecimiento de hongo *Penicillium* del requesón a 8°C.
..... 43

Figura 24. Color en la inoculación del crecimiento de hongo *Penicillium* del requesón a
28°C. 44

1. INTRODUCCIÓN

La leche es uno de los alimentos más antiguos conocidos por la humanidad. Desde que el hombre consiguió domesticar animales productores de leche como la oveja y la vaca, este alimento se volvió indispensable en la dieta de nuestros antepasados. En poco tiempo aprendieron a elaborar derivados de la leche como el queso. Se estima que el origen del queso fue desde la domesticación de las ovejas hacia el año 8000 a.C. El descubrimiento se le atribuye a una antigua leyenda la cual dice lo siguiente; en un viaje de un pastor árabe, aquel hombre transportaba leche en su odre de piel de cordero, lo que ocasionaba que quedara fermentada y coagulada. Esto se debía a la acción del sol, el calor del desierto y los organismos vivos con acción enzimática del recipiente en el que se encontraba contenida la leche. Posiblemente fue de esta manera la primera forma en la que se elaboró el queso, considerado uno de los grandes hallazgos alimenticios de la antigüedad.

Además del queso, también existe un sub-derivado de la leche llamado requesón, este alimento tiene un origen ancestral, se cree que se consume desde la época romana. Durante la Edad Media, fue muy apreciado por los monjes, quienes lo utilizaban para preparar platillos, los cuales podían ser dulces o salados. El requesón se obtiene a través de la fermentación del suero residual del queso. Debido a su proceso de elaboración y a las condiciones ambientales, es propenso al crecimiento de bacterias y mohos, lo que da lugar a quesos con sabores característicos, innovadores y deliciosos.

Los quesos fermentados son productos alimenticios que durante su elaboración involucra a la actividad microbiana como principal responsable de su elaboración, a través de la descomposición de compuestos orgánicos (la mayoría de ellos de origen animal, como por ejemplo la leche), el proceso depende totalmente del crecimiento y la actividad específica de mohos, bacterias o levaduras. Actualmente, los alimentos fermentados son demandados por sus propiedades sensoriales, calidad nutracéutica y grandes beneficios para la salud humana.

Los hongos y levaduras forman parte del reino fungi, los cuales se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza; en el aire, agua, suelo y plantas. Algunas especies son consideradas patógenas o causantes de daños, por ejemplo, en estructuras vegetales o la

descomposición total de algunos alimentos, pero muchas de ellas se utilizan en la industria alimentaria como en la producción de pan, bebidas, embutidos y queso. La presencia de ciertos tipos de mohos en los quesos afecta sus características sensoriales debido a la actividad enzimática que estos microorganismos poseen.

El moho *Penicillium sp.*, es un hongo importante en la producción de ciertos tipos de queso, como el queso azul. Este hongo, que pertenece a la división *Ascomycota*, trabaja en conjunto con cultivos lácticos para madurar el queso y cambiar su sabor y apariencia. Su crecimiento depende de ciertos factores como; temperatura ambiental, pH, humedad y temperatura de maduración.

En la industria láctea la producción de queso y requesón ha tenido un crecimiento exponencial tanto a nivel nacional e internacional. Tan solo en el año 2022, el intercambio comercial de estos productos alcanzó cerca del billón de dólares. Los principales destinos para las exportaciones desde México fueron: Estados Unidos, Alemania, Italia y Francia. Este sector posee un gran potencial para la generación de empleos e ingresos, lo que puede contribuir en el crecimiento económico del país. La leche y sus derivados son alimentos primordiales para la dieta alimenticia de las personas debido a que proporcionan una amplia gama de nutrientes como proteínas de alto valor biológico, vitaminas y minerales esenciales para una nutrición adecuada y también es una gran fuente de calcio, valores que la hacen formar parte de la canasta básica alimenticia de muchos países.

El propósito de este proyecto es examinar muestras de queso fresco y requesón con la finalidad de obtener cepas de *Penicillium sp.* que presente características similares al queso azul. Esto se hace con el objetivo de desarrollar nuevos productos que cumplan con los requerimientos nutricionales para los consumidores de ciertos segmentos de la población, tanto en países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo General

Analizar muestras de queso y requesón elaborado de forma artesanal del estado de Tlaxcala para la obtención y aislamiento de cepas de *Penicillium sp.* con características de similares al queso azul, para la elaboración de nuevos productos.

1.1.2. Objetivos específicos

- Analizar muestras de queso fresco y requesón, con las características microbiológicas de *Penicillium*.
- Aislar e identificar morfológicamente las cepas obtenidas del queso que presentaron características de *Penicillium sp.*
- Evaluar cinéticamente la producción de las cepas de *Penicillium sp* en diferentes medios de cultivo bajo condiciones de laboratorio.

2. JUSTIFICACIÓN

Actualmente existe una gran variedad de quesos, entre ellos el queso azul; es originario de Europa, específicamente de Francia, se tienen registros de que fue elaborado por primera vez en Francia durante la época romana. Roquefort es solo una de tantas variedades de quesos fermentados a través de micelios de bacterias, elaborado con leche de cabra. Existe un asociación, la cual se encarga tanto de la elaboración como la distribución de este tipo de queso (Société de Roquefort manufacturers), misma que determina los ingredientes y especias utilizadas para su saborización y elaboración, así como los procesos de manufactura, los cuales deben de ser bajo técnicas culturales heredadas de generación en generación que van desde la preparación del inóculo del micelio, el desarrollo del sabor y algunas modificaciones en los procesos (dependiendo de quien lo elabore).

Pese a que existe una amplia gama de los quesos denominados azules, existe una ley europea que dice; los quesos añejados en las cuevas de Combalou de Roquefort-sur-Soulzon, pueden llevar la denominación de Roquefort, debido a las condiciones ambientales de la zona anteriormente mencionada, facilita el desarrollo natural del hongo y su mantenimiento en el queso para su fermentación total, el cual es *Penicillium sp.*. Actualmente en México (laboratorio de ciencia y tecnología de alimentos de la UAAAN) se busca la alternativa para desarrollar un proceso similar, pero de manera industrializada para el desarrollo de las cepas de este hongo con un alto valor en la industria láctea.

3. REVISION DE LITERATURA

3.1. Leche de Cabra

La leche de cabra (*Capra hircus*) ocupa el cuarto lugar después de las leches de vaca, búfala y oveja en términos de producción mundial de leche.(Amigo y Fontecha, 2002). La leche de cabra es el alimento más completo que se conoce, alimento natural altamente compatible y nutritivo. Es tan nutritivo que incluso puede servir como sustituto de una comida. También es el preferido por su bajo contenido en grasas y su capacidad para neutralizar los ácidos y toxinas presentes en el organismo. La leche de vaca forma moco para muchas personas; sin embargo, la leche de cabra no sólo no forma mucosidad, sino que también ayuda a neutralizarla. Es conocida por su contenido superior en calcio, en comparación con la leche de otros animales y las enzimas curativas presentes en ella (G et al., 2016).

La leche de cabra es una buena fuente de K, un mineral esencial para mantener la presión arterial y la función cardíaca normales. Dado que una taza de leche de cabra contiene 498,7 mg de K y 121,5 mg de Na, ayuda a prevenir la presión arterial alta y protege contra la aterosclerosis. También es una buena fuente de proteínas, fósforo, riboflavina (vitamina B2) y potasio (G et al., 2016).

El contenido de vitaminas y minerales de la leche de cabra y de la leche de vaca es bastante similar, aunque la leche de cabra contiene un poco más de calcio, vitamina B6, vitamina A, potasio, niacina, cobre y el antioxidante selenio (G et al., 2016).

Tabla 1 Composición química media de la leche de diferentes especies (por 100g de leche fresca)

Species	Water (%)	Proteins (%)	Fat (%)	Lactose (%)	Mineral salt (%)
Buffalo	82.2	4.8	7.5	4.7	0.8
Goat	86.5	3.9	4.3	5.8	0.8
Ewe	80.9	6	7.5	5.4	1.1
Cow	87.5	3.2	3.7	4.6	1

3.1.1. Queso de Cabra

El queso puede definirse como una cuajada consolidada de sólidos lácteos en la que la grasa láctea queda atrapada por proteínas coaguladas (caseína). El queso fresco más simple que se conoce es el queijo fresco (queso fresco, queso blanco). El queijo fresco es un tipo común de queso en el sur de Europa y América Central y del Sur. Su procesamiento simple requiere el calentamiento de la leche seguido de la adición de cuajo o un ácido orgánico de grado alimenticio (ácido acético, cítrico o láctico o incluso jugo de limón). Después de la coagulación y el drenaje del suero, la cuajada se sala, se envuelve y se envasa. La textura y la sensación en boca del queijo fresco dependen de la severidad del tratamiento térmico dado a la leche, el tipo de ácido utilizado y el modo de coagulación. Si se presan las cuajadas, el queso tendrá una textura más gomosa, especialmente si está hecho de leche baja en grasa. Después del envasado, el queijo fresco está listo para comer y tiene una vida útil promedio de 5 a 7 días si se mantiene refrigerado (Kongo & Malcata, 2016).

Sin embargo, los quesos pueden ser procesados a través de una tecnología más básica, como ocurre en la elaboración de quesos artesanales. Estos quesos, también llamados quesos tradicionales o especiales, están esencialmente hechos a mano y, cuando se elaboran con leche cruda, generalmente se consideran más interesantes en términos de sabor y aroma que sus contrapartes industriales. Por lo tanto, la elaboración de quesos artesanales sigue siendo una parte importante del mercado del queso en el mundo. De hecho, los quesos artesanales a menudo se consideran productos alternativos que pueden contribuir activamente a la salud de los consumidores, aunque existen algunas preocupaciones relacionadas con su seguridad. En particular, la leche cruda para la transformación de quesos de leche cruda debe ser de una calidad microbiana estándar (<104 ufc ml⁻¹), que es un factor clave para obtener productos de la más alta calidad. Cualquiera que sea el proceso (industrial o artesanal), los quesos resultantes pueden clasificarse en función de su contenido de humedad y grasa en quesos «blandos» (frescos), «semiblandos» (medios) o «duros» (Kongo & Malcata, 2016)

En general, los quesos son alimentos muy nutritivos que contienen proteínas, grasas, vitaminas liposolubles y calcio. Por su contenido en grasas, el queso es un alimento alto en

calorías; por ello, se han realizado esfuerzos para elaborar quesos bajos en grasa. Como la reducción de grasa da como resultado una textura gomosa desagradable, los quesos bajos en grasa suelen ser de tipo fresco (blando). Los quesos frescos sin madurar aún pueden tener una cantidad considerable de lactosa y esto, asociado con un alto contenido de humedad, los hace más propensos a deteriorarse por bacterias, por lo que tienen una vida útil corta (Kongo & Malcata, 2016)



Figura 1. Queso fresco artesanal de cabra.

3.1.2. Requesón

El requesón es un producto lácteo menor, pero tiene un alto valor añadido. Se fabrica mediante un proceso en el que se forma una cuajada, se recose y luego se recubre con un aderezo en crema. La cuajada se elabora mediante la acidificación de la leche desnatada por bacterias iniciadoras lácticas (se añade algo de cuajo, pero esta no es la causa principal de la coagulación). Después de cocinar y lavar la cuajada, se agrega un aderezo de crema, junto con frutas, hierbas o especias en algunos casos. La vida útil del producto está determinada esencialmente por la calidad microbiológica del aderezo de crema y el estado microbiano de los otros aditivos, así como por su pH. Se debe prestar especial atención a la calidad del agua utilizada para lavar la cuajada (Muir, 2011).

El requesón se ha considerado durante mucho tiempo una fuente ideal de proteínas para quienes siguen dietas de pérdida de peso porque se puede preparar en una variedad de formas bajas en grasa, es económico y se puede utilizar en una multitud de recetas. Cada año se consumen miles de millones de libras de requesón en los Estados Unidos, probablemente

como resultado de la percepción que tiene el público del requesón como un alimento saludable (Kongo & Malcata, 2016).



Figura 2. Requesón artesanal natural

3.2. Beneficios del Queso

En cuanto a los beneficios nutricionales del queso, la fracción proteica del queso puede actuar como precursora de moléculas biológicamente activas. Durante la maduración del queso y la digestión de los alimentos, las caseínas de la leche liberan una gran variedad de péptidos. Algunos de estos péptidos son estructuralmente similares a los péptidos endógenos y, por tanto, pueden interactuar con receptores del tracto gastrointestinal (por ejemplo, receptores opioides), facilitar la absorción de minerales (CPP) o ser absorbidos y llegar al torrente sanguíneo. Aunque la cantidad de péptidos derivados de alimentos absorbidos después de la ingestión oral puede ser baja, cada vez se construye más evidencia en estudios clínicos de varios efectos biológicos relacionados con la ingestión de algunas de estas secuencias (Santiago-López et al., 2018.,Silva et al., 2018.,Verruck et al., 2019).

El paso de maduración de la elaboración del queso aporta compuestos bioactivos como: péptidos, exopolisacáridos, ácidos grasos, ácidos orgánicos, vitaminas, ácido aminobutírico (GABA) y CLA. Algunos de estos compuestos podrían inhibir la enzima convertidora de angiotensina (ECA) y exhibir actividades antioxidantes, antimicrobianas, antiproliferativas y antihipertensivas (Verruck et al., 2019).

Las bioactividades conducen a efectos protectores de la salud asociados con una menor incidencia de factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares, como obesidad, dislipidemia y diabetes tipo 2, así como una menor incidencia de síndrome metabólico (Santiago-López et al., 2018; Verruck et al., 2019)

3.3. Composición del Queso

3.3.1. Valor nutricional del queso

El queso contiene una alta concentración de nutrientes esenciales en relación con su nivel energético. Su contenido preciso de nutrientes está influenciado por el tipo de leche utilizada, el proceso de fabricación y el tiempo de maduración, ya que la composición del queso fresco, blando, semiduro y duro varía (Vacca et al., 2018; Verruck et al., 2019).

La mayor parte de la lactosa de la leche se pierde en el suero durante la fabricación del queso, y la lactosa residual en la cuajada del queso generalmente es fermentada a ácido láctico por las bacterias iniciadoras. Con la excepción de los quesos frescos, la mayoría de los quesos no contienen lactosa o contienen sólo trazas de este componente. Por lo tanto, las personas intolerantes a la lactosa pueden consumir quesos sin efectos nocivos (Szilagyi & Ishayek, 2018; Verruck et al., 2019).

3.3.2. Contenido de grasa

El contenido de grasa del queso depende de la leche utilizada, del método de elaboración y del tipo de queso elaborado. Desde el punto de vista nutricional, la digestibilidad de la grasa en diferentes variedades de queso se encuentra en el rango del 88-94% (Trancoso-Reyes et al., 2014; Verruck et al., 2019).

La grasa del queso generalmente contiene aproximadamente un 66% de ácidos grasos saturados (AGS), de los cuales el ácido palmítico representa un 57,4%, seguido del mirístico (21,6%) y esteárico (17,6%), un 30% de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) y un 4% de ácidos grasos poliinsaturados. (PUFA) (Hickey et al., 2018; Verruck et al., 2019). Por lo tanto, el queso representa una fuente dietética importante de grasa total y AGS (Verruck et al., 2019).

Es importante señalar que algunos AGS desempeñan un papel importante en la regulación celular mediante la acetilación de proteínas, en la expresión genética, así como en la modulación de la regulación genética, en la regulación de la biodisponibilidad de los AGPI y en el depósito de grasas (Markey et al., 2017). Estudios relacionaron 100 mg de colesterol al día como un consumo dietético saludable Además, se sabe que el ácido butírico puede

desempeñar un papel en la prevención del cáncer, los ácidos caprílico y cáprico tienen actividades antivirales y el ácido láurico puede tener propiedades antivirales, antibacterianas y anticariogénicas (Huang et al., 2014; Verruck et al., 2019)

Los ácidos grasos participan en diversos procesos biológicos, sirviendo como sustratos energéticos y regulando las células, además de influir en la expresión genética, la biodisponibilidad de PUFA y la deposición de grasa. Además, los ácidos grasos pueden desempeñar un papel en la prevención del cáncer (Santiago-López et al., 2018; Verruck et al., 2019). Otros factores involucrados en la posterior formación de CLA en los quesos son las condiciones de procesamiento, la composición de la leche cruda y el tiempo de fermentación previo (Santiago-López et al., 2018). Se ha informado que el CLA tiene varios efectos beneficiosos en trastornos relacionados con la salud cuando se prueba in vitro y en modelos animales, incluidas propiedades anticancerígenas, antiadipogénicas, antiaterogénicas, antidiabéticas y antiinflamatorias (Mohan et al., 2013; Verruck et al., 2019).

3.3.3. Contenido en minerales y vitaminas

La mayoría de las vitaminas liposolubles de la leche se conservan en la grasa del queso. La concentración de vitaminas hidrosolubles en el queso es generalmente menor que en la leche debido a las pérdidas en el suero. En el queso se encuentra una mayor concentración de vitaminas liposolubles, en lugar de vitaminas hidrosolubles, porque el suero se elimina durante el proceso de fabricación. Las principales vitaminas presentes en el queso son la riboflavina, la vitamina B12, la niacina, el ácido fólico y la vitamina A (Santiago-López et al., 2018) Por ejemplo, 50 g de queso cheddar pueden proporcionar el 28% y el 32% de la ingesta diaria recomendada de vitamina A para hombres y mujeres, respectivamente. Esto es especialmente importante porque la vitamina A tiene varias funciones biológicas, como estimular el sistema inmunitario, regular la expresión génica y mantener la visión con poca luz (de Medeiros et al., 2018; Verruck et al., 2019).

El queso también es una fuente importante de varios minerales, en particular, calcio (Ca), zinc (Zn), fósforo (P) y magnesio (Mg). Los niveles de Ca y P en el queso son mucho más altos que en la leche: de cuatro a cinco veces en los quesos blandos, los lácteos y el impacto positivo en la salud del consumidor 115 siete a ocho veces en los quesos semiduros, y hasta 10 veces en los quesos duros. De hecho, una ración de 50 g de queso duro aporta

aproximadamente 400 mg de Ca, lo que supone casi el 100% de la ingesta diaria recomendada de Ca en niños de entre 1 y 10 años. Además, la relación Ca/P es particularmente útil para el cuerpo, ya que se digiere en una forma que es altamente biodisponible debido a los complejos que se forman entre el Ca y los péptidos de caseína dentro del queso. Dichos complejos mantienen el Ca en forma soluble y protegen el Ca contra la precipitación en el intestino, facilitando la absorción de Ca. Dado que el queso es una fuente concentrada de Ca biodisponible, aumentar la cantidad consumida en la dieta diaria junto con una buena fuente de vitamina D tiene el potencial de proteger contra la osteoporosis en el futuro, especialmente en aquellos que consumen cantidades inadecuadas de Ca a una edad temprana (Silva et al., 2018). El Ca dietético podría afectar la masa grasa corporal al aumentar la excreción de grasa fecal, así como al estimular la lipólisis e inhibir la lipogénesis (Castro Burbano, Fajardo Vanegas, Robles Rodríguez y Pazmín Estévez, 2016). Además, se ha demostrado que el calcio tenía mecanismos hipolipidémicos a través de la inhibición de la absorción de grasas y el aumento de la excreción de grasas fecales, la inhibición de la absorción de ácidos biliares y un aumento inducido por Ca en la conversión de colesterol en ácidos biliares (Chen et al., 2016; Verruck et al., 2019).

El queso contribuye muy poco al hierro de la dieta; sin embargo, se encuentra una amplia gama de niveles de sodio (Na) en el queso debido a las diferentes cantidades de sal agregadas durante la elaboración del queso. Aunque existe una considerable conciencia sobre el hecho de que la ingesta de Na contribuye a la hipertensión, el queso solo agrega alrededor del 5-8% de la ingesta total de Na (Silva et al., 2018; Verruck et al., 2019).

3.3.4. Contenido de proteínas

El queso contiene un alto contenido de proteínas biológicamente valiosas, que oscila entre el 4% (queso crema) y el 40% (parmesano) dependiendo de la variedad. Además, el valor nutricional de las proteínas del queso no cambia durante la fabricación del queso, y el contenido tiende a variar inversamente con el contenido de grasa (Gore et al., 2016). La proteína del queso es casi digerible, ya que la fase de maduración de la fabricación del queso implica una descomposición progresiva de la caseína en péptidos solubles en agua, muchos de ellos con bioactividad, y aminoácidos libres. Estos péptidos solo son activos después de haber sido liberados de su proteína original por proteólisis y pueden ejercer una amplia gama

de actividades como antihipertensivas, antioxidantes, antimicrobianas e inmunomoduladores (Silva et al., 2018). Entre el contenido de aminoácidos en el queso, es importante destacar el alto contenido en lisina. La lisina tiene una alta biodisponibilidad en el queso debido a la ausencia de reacciones de Maillard (Zhu et al., 2018 ; Verruck et al., 2019).

3.3.5. Contenido de lactosa

La mayor parte de la lactosa de la leche se pierde en el suero durante la fabricación del queso, y la lactosa residual en la cuajada de queso generalmente se fermenta a ácido láctico por las bacterias iniciadoras. Además, las bacterias del ácido láctico hidrolizan la lactosa durante la fermentación y producen altas concentraciones de ácido láctico y otros ácidos orgánicos (Szilagyi & Ishayek, 2018; Verruck et al., 2019).

Con la excepción de los quesos frescos, la mayoría de los quesos no contienen lactosa o solo contienen trazas. Por lo tanto, los quesos pueden ser consumidos sin efectos nocivos por personas intolerantes a la lactosa. En condiciones dietéticas normales, alrededor del 30-40% del calcio contenido en la leche y el queso se absorbe en el intestino, ya sea a través del transporte dependiente de la vitamina D a través del duodeno, la difusión facilitada o bajo la influencia de la lactosa en el intestino delgado distal a través de la ruta para celular. Por lo tanto, la lactosa en los productos lácteos puede facilitar la absorción intestinal de calcio (Ugidos-Rodríguez et al., 2018) . Además, la mayoría de los individuos intolerantes a la lactosa pueden tolerar hasta 12 g de lactosa (250 ml de leche, lo que representa 300 mg de calcio y el 30% de la ingesta recomendada de calcio) sin sufrir síntomas gastrointestinales, aunque los síntomas se vuelven más prominentes a dosis superiores a 12 g y son apreciables después de 24 g de lactosa (Rozenberg et al., 2016; Verruck et al., 2019).

3.4. Tipos

3.4.1. Quesos blandos madurados

Hay una serie de quesos blandos que se someten a un período de maduración que generalmente puede llegar hasta 1 mes. Ejemplos de estos son el queso Brie, Feta, Camembert, Serra da Estrela y otros (Kongo & Malcata, 2016).

3.4.2. Feta

El queso feta es un queso con denominación de origen protegida (DOP) y puede ser el queso griego más famoso, ocupando más o menos el 70% del mercado de quesos griegos. Tradicionalmente, el queso se elabora mezclando un 30% de leche de cabra con leche de oveja, aunque hoy en día también se elabora leche de cabra y de vaca. La coagulación requiere el uso de un cultivo iniciador (un cultivo mixto que puede contener *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *L. helveticus* y *Streptococcus thermophilus*) y posteriormente la adición de cuajo, drenaje seguido de salazón en salmuera. La textura del queso feta es cremosa o desmenuzable, y varía según la edad, el entorno local, las razas de animales y los cultivos iniciadores. El queso feta añejado durante 4 a 6 semanas se vende en bloques y, debido a que a veces es un queso con alto contenido de sal, se lava bajo el agua para eliminar el exceso de salinidad (Kongo & Malcata, 2016).



Figura 3. Queso feta

3.4.3. Brie

El Brie y el Camembert son los tipos de los llamados quesos madurados con moho y se producen a partir de leche de vaca entera o semidesnatada a la que se añade cuajo. Después de la coagulación y después de que la cuajada esté firme, se inyectan con una infusión de moho de *Penicillium candidum* o *P. camemberti*. A continuación, el queso se funde en varias capas de queso en moldes y luego se conserva durante unas 18 h. Después de esto, el queso se sala y se madura durante un mínimo de 4 semanas. *P. candidum* o *P. camemberti* tienen una alta actividad proteolítica y lipolítica; por lo tanto, contribuyen de manera importante al desarrollo del sabor típico del Brie. Hay varias variedades de queso Brie, incluyendo el simple, el de hierbas y otros con combinaciones de productos lácteos. La dinámica

microbiana durante la maduración del Brie y el Camembert puede ser compleja, lo que implica la sucesión de diferentes tipos de microorganismos como levaduras, mohos y bacterias del ácido láctico, cada uno de los cuales prevalece a valores de pH y diferentes fases de maduración (Kongo & Malcata, 2016)



Figura 4. Queso Brie y Camembert

3.4.4. Camembert

El camembert es un queso blando con alto contenido de grasa, también elaborado con leche de vaca. El camembert se madura como un queso pequeño y redondo y se vende como tal, por lo que está completamente cubierto por la corteza. El buen queso Camembert es insípido, duro y de textura quebradiza cuando está fresco. A medida que el queso madura, forma un interior liso y líquido y una corteza blanca y florida que es típica del queso Camembert. Tiene un sabor rico y mantecoso. La corteza es de color blanco florido causado por un hongo blanco del grupo *Penicillium* (Kongo & Malcata, 2016).

3.4.5. Serra da Estrela

Serra da Estrela es un queso portugués DOP (Denominación de Origen Protegida) y ha sido elaborado durante siglos por pastores en las montañas de Serra da Estrela, en la región de Beira, a partir de leche de oveja. El queso está totalmente hecho a mano, y la cuajada se rompe a mano. La Serra da Estrela es tan suave que es casi unttable. La afinidad tarda entre 30 y 40 días. Curiosamente, la Serra da Estrela, entre otros quesos tradicionales portugueses, se coagula con un cuajo de cardo de una planta llamada cardo. La alta actividad proteolítica del coagulante vegetal asociada al alto contenido de grasa de la leche de oveja da la textura suave y unttable típica del queso Serra da Estrela (Kongo & Malcata, 2016).



Figura 5. Queso Serra da Estrela

3.4.6. Quesos Fermentado

Los productos lácteos fermentados con alto valor nutricional se consideran “las perlas de la corona de la industria láctea” (Kourkoutas et al., 2006). Con la mejora de la calidad de vida, las necesidades y demandas alimentarias de la población han ido cambiando en términos de cantidad y calidad (Zheng et al., 2021). El queso es un producto lácteo fermentado que contiene diferentes comunidades microbianas, que cambian con el tiempo y según el tipo de queso y sus respectivos cultivos iniciadores y adjuntos. Estos microorganismos son factores importantes que determinan el sabor, la calidad y la seguridad de los productos de queso (Santiago-López et al., 2018; Suzuki-Iwashima et al., 2020; Wang et al., 2024). Los quesos tradicionalmente fermentados tienen comunidades microbianas complejas, co-fermentación de múltiples cepas, mecanismos metabólicos complejos y diferentes perfiles de sabor. Por lo tanto, los microbios desempeñan un papel fundamental en la formación del sabor del queso (Zheng et al., 2021).

La fermentación microbiana que sufre la leche durante su transformación en queso puede modular la composición del queso directamente a través de la síntesis de vitamina (Reif et al., 1976). La fermentación microbiana también regula indirectamente la composición del queso al disolver ciertos minerales y lactatos perdidos en el suero después de la coagulación de la leche (Lucey & Fox, 1993). Además, la composición del queso cambia según el proceso de elaboración utilizado (Mucchetti et al., 2008; Zheng et al., 2021).

Los procesos de fermentación de alimentos se pueden clasificar según los metabolitos primarios y los microorganismos involucrados: alcohol y dióxido de carbono (levadura),

ácido acético (*Acetobacter*), ácido láctico (bacterias ácido lácticas (BAL) pertenecientes a géneros como *Leuconostoc*, *Lactobacillus* y *Streptococcus*.), ácido propiónico (*Propionibacterium freudenreichii*) y amoníaco y ácidos grasos (*Bacillus*, mohos). Las fermentaciones también se pueden describir en función de los sustratos alimentarios, que incluyen carnes y pescados, lácteos, verduras, soja y otras legumbres, cereales, raíces amiláceas y uvas y otras frutas. Las materias primas que contienen altas concentraciones de monosacáridos y disacáridos, o en algunos casos almidón, son fermentadas por levaduras o bacterias del ácido láctico. Los mohos y *los bacilos* se emplean generalmente para la sacarificación o proteólisis del almidón o como microbiota de maduración secundaria después de una fermentación primaria (Marco et al., 2017).

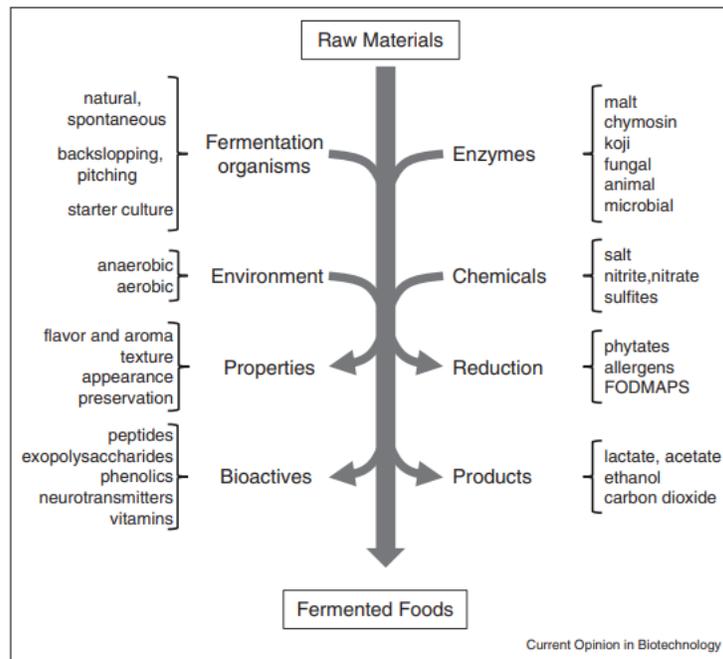


Figura 6. Panorama general de la naturaleza transformadora de los alimentos fermentados (Marco et al., 2017)

3.4.7. Beneficios de los alimentos fermentados.

La fermentación puede verse como un método biológico de conservación de alimentos. Los alimentos producidos de esta manera tienen un riesgo reducido de contaminación cuando

están enriquecidos con productos finales antimicrobianos, como ácidos orgánicos, etanol y bacteriocinas. Las ventajas de los alimentos fermentados también incluyen sabores y texturas nuevos y deseables que son completamente diferentes a los presentes en los materiales de partida (Marco et al., 2017).

3.4.8. Transformación de los componentes de los alimentos.

Durante la fermentación, la actividad enzimática de la materia prima y la actividad metabólica de los microorganismos pueden cambiar las propiedades nutritivas y bioactivas de las matrices alimentarias de una manera que tiene consecuencias beneficiosas para la salud humana. Por ejemplo, la mayoría de los quesos suelen ser bien tolerados por las personas intolerantes a la lactosa porque parte de la lactosa originalmente en la leche se fermenta y la lactosa restante se separa en la fracción de suero durante la producción del queso (Marco et al., 2017).

3.4.9. Microorganismos de productos lácteos fermentados

Los productos lácteos fermentado se clasifican en dos grupos principales según los microorganismos: (A) fermentación láctica, dominada por especies de BAL, que comprenden el tipo "termófilo" (p. ej., yogur, suero de leche búlgaro), el tipo probiótico (p. ej., , leche acidophilus, leche bifidus) y el tipo mesófilo (p. ej., leche fermentada natural, leche cultivada, crema cultivada, suero de leche cultivado); y (B) fermentaciones lácticas fúngicas, donde las BAL y las levaduras cooperan para generar el producto final, que incluyen leches alcohólicas (p. ej., leche de levadura acidophilus, kéfir , koumiss) y leches con moho (p. ej. , viili ; (Mayo et al., 2010; Tamang et al., 2016).

El queso y los productos derivados de la fermentación de la leche son de gran importancia nutricional y comercial en todo el mundo (Chandan et al., 2006) . Los cultivos iniciadores en la fermentación de la leche son de dos tipos: cultivos primarios que son en su mayoría *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lc. lactis subsp. lactis*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. delbrueckii*, *L. delbrueckii subsp. lactis*, *L. helveticus*, *Leuconostoc spp.* y *Streptococcus thermophilus* para participar en la acidificación (Parente & Cogan, 2004); y los cultivos secundarios que se utilizan en la elaboración de queso son *Brevibacterium linos*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Debaryomyces hansenii*, *Geotrichum candidum*,

Penicillium camemberti y *P. roqueforti* para el desarrollo del sabor y la textura durante la maduración del queso (Coppola et al., 2006); (Quigley et al., 2011). Algunas microbiotas de bacterias del ácido láctico no iniciadoras (NSLAB) suelen estar presentes en grandes cantidades en la leche fermentada, que incluyen *Enterococcus durans*, *Ent. faecium*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. salivarius* y *Staphylococcus spp.* (Briggiler-Marcó et al., 2007; Tamang et al., 2016).

Las especies BAL se encuentran entre los microorganismos más adecuados para crecer rápidamente en la leche con la producción concomitante de ácido láctico. No es sorprendente que el proceso de fermentación sea llevado a cabo principalmente por una serie de diferentes miembros de las LAB (FAO/OMS 2003). El término BAL abarca un conjunto diverso de bacterias que producen ácido láctico como el principal producto final de la utilización de carbohidratos. Son microorganismos no esporulados, anaeróbicos, aerotolerantes que presentan capacidades biosintéticas limitadas, por lo que requieren un medio rico para crecer y una serie de factores de crecimiento, como aminoácidos, vitaminas, purinas y pirimidinas (Carr et al., 2002). El desarrollo de tipos de BAL a altas densidades celulares durante la fermentación modifica los constituyentes de la leche (proteínas y grasas) a través de sus sistemas complejos proteolíticos y lipolíticos (Smit et al. 2005). Esto contribuye a las características reológicas y sensoriales finales de los productos fermentados. Además, el ácido láctico y otros metabolitos bacterianos producidos durante el crecimiento (H_2O_2 , diacetilo, bacteriocinas) mejoran aún más la estabilidad y la seguridad de los productos fermentados al inhibir el deterioro y los microorganismos patógenos. Así, la fermentación conserva todos los nutrientes críticos de la leche y modifica otros, potenciando sus beneficios nutritivos y saludables (Jyoti Prakash Tamang & Kasipathy Kailasapathy, 2010).

3.5. Hongos del género *Penicillium sp*

Los hongos de este género se clasifican en la división *Ascomycota*, clase *Euromycetes*, orden *Eurotyales*, familia *Trichocomoaceae*. Este hongo crece rápidamente formando un micelio de color blanco inicialmente, a medida que se forman las esporas se va coloreando según la especie, al final el micelio es de aspecto pulverulento y está cubierto de esporas, el conidióforo puede ser monoverticilado asimétrico, biverticilado simétrico o poliverticilado. *Penicillium sp* presenta 13 hifas con ramificaciones como se aprecia al final de los

conidióforos, la métula, fiálides y conidios se unen a modo de eslabones de cadenas (Visagie et al., 2014; Andino Gualpa et al., 2021).

La apariencia de un moho que crece en un alimento suele ser suficiente para indicar su género. En este sentido, algunos tienen un aspecto seco y polvoriento, otros aterciopelados en la superficie superior y otros gelatinosos o húmedos, mientras que algunos moldes son compactos y otros sueltos y esponjosos. Además, también son característicos los pigmentos del micelio (negro, rojo violeta, gris, etc.). Los mohos se caracterizan por el desarrollo de *hifas* (una masa de filamentos entrelazados y ramificados), que dan como resultado las características de la colonia (conocida como *micelio*). En general, la mayoría de los mohos requieren menos humedad disponible que la requerida para la mayoría de las levaduras y bacterias y la temperatura óptima para la mayoría de los mohos oscila entre 25°C y 30°C. Además, los mohos crecen en la superficie de los alimentos (requieren oxígeno libre para crecer) y en un amplio rango de valores de pH (de 2 a 8,5), pero la mayoría se ve favorecido por un pH ácido (Lorenzo et al., 2018).

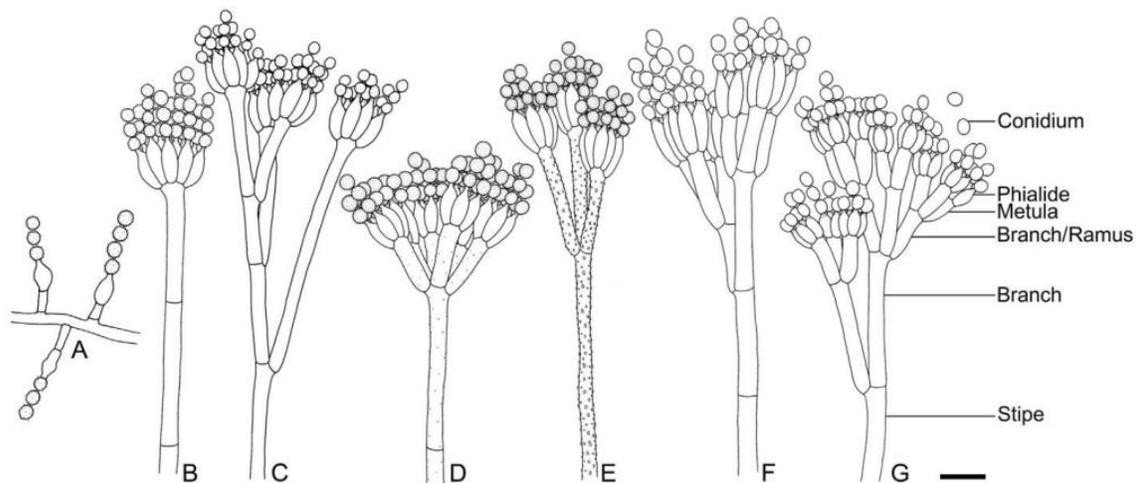


Figura 7. Patrones de ramificación de conidióforos en *Penicillium*. A, Conidióforos con fialidas solitarias. B. Monoverticilado. C. Divaricar. D, E, Biverticilado. F. Terverticilado. G. Cuaterverticilado. (Visagie et al., 2014)

Penicillium es un hongo muy conocido y uno de los más comunes. Tiene una distribución mundial y un gran impacto económico en la vida humana. Su función principal en la

naturaleza es la descomposición de materiales orgánicos, donde las especies causan pudriciones devastadoras como patógenos previos y posteriores a la cosecha en cultivos alimentarios (Frisvad & Samson, 2004; Pitt & Hocking, 2009), además de producir una amplia gama de micotoxinas (Frisvad & Samson, 2004). Además, algunas especies también tienen impactos positivos, ya que la industria alimentaria explota algunas especies para la producción de embutidos fermentados especiales (López-Díaz et al., 2001; Ludemann et al., 2010) y quesos, como el Camembert o el Roquefort (Giraud et al., 2010; Lorenzo et al., 2018)

3.5.1. Tipos de *Penicillium* en quesos.

Las principales especies de mohos utilizados en la elaboración de quesos que pertenecen a esta familia y son *Penicillium roqueforti*, *Penicillium glaucum*, *Penicillium gorgonzola*, *Penicillium candidum*, *Penicillium camemberti*. Los tres primeros son más utilizados para la elaboración de quesos de pasta blanda. Los mohos utilizados para la elaboración de quesos de pasta azul se suelen añadir a la leche o al queso. Estos mohos, para su crecimiento, necesitan gran cantidad de oxígeno, de manera que se suelen perforar los quesos con agujas para que entre el aire. Se les deja respirar durante el proceso de maduración y los mohos se van desarrollando desde el interior hacia la superficie del queso. Al cabo de unas cuatro o cinco semanas de maduración ya se ven los mohos azules sobre la parte exterior de los quesos. Sánchez Jáuregui & Zhiminaicela Sánchez, 2018).

3.5.2. *Penicillium roqueforti*

Las colonias fúngicas suelen alcanzar los 40e70 mm en 14 d en medios de agar de extracto de levadura Czapek (CYA) y agar extracto de malta (MEA), y presentan un color verde azulado típico asociado a la producción de conidios (esporas asexuales). Cabe destacar que se ha observado una alta variabilidad macroscópica para las cepas de esta especie (Gillot et al., 2015). En el medio PDA, el color y la textura de la colonia, así como el ancho de los márgenes, pueden variar. El color varía de gris verdoso claro a oscuro y puede incluir tonos grises, amarillentos y verde oliva; mientras que la textura de la colonia puede variar de aterciopelada a fasciculada. El tamaño de los márgenes también puede variar en gran medida según la cepa considerada, desde muy delgada hasta representar un tercio de la colonia diámetro (Coton et al., 2020).

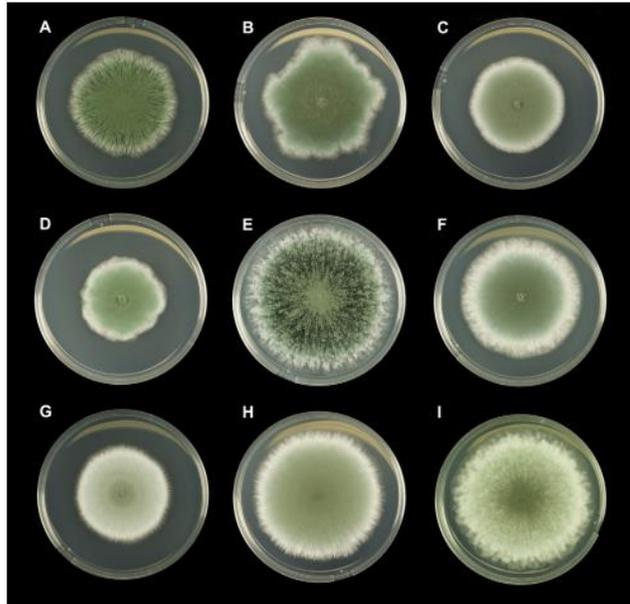


Figura 8. Ejemplos de variabilidad de la morfología macroscópica en *Penicillium roquefortii* (Coton et al., 2020)

3.5.3. Modo de empleo de *Penicillium roquefortii*

El *Penicillium roquefortii* se emplea para la elaboración de quesos por su acción lipolítica y proteolítica poderosa, responsable del aroma típico del queso Roquefort o de queso de cabrales. El aroma se debe sobre todo a las metilcetonas y los alcoholes secundarios que produce, así como los aminoácidos y el amoníaco liberado por distintas reacciones químicas (Carpenter, 1979; Sánchez Jáuregui & Zhiminaicela Sánchez, 2018).

4. MATERIALES Y METODOS

4.1. Recolección de las muestras.

En este proyecto se emplearon muestras de queso elaborado con leche de cabra obtenida en el municipio de San José Teacalco, Tlaxcala, mediante métodos artesanales. El procedimiento incluye enfriar la leche recién ordeñada a una temperatura de entre 5 y 8°C posteriormente, la leche se somete a un proceso de pasteurización a 65°C durante 30 minutos para eliminar posibles microorganismos dañinos que podrían afectar la salud de quienes la consumen. Una vez alcanzada la temperatura adecuada, se agrega cuajo a 100 lt de leche tibia (32 a 35°C) agrega 10 a 15 ml previamente diluido en 100 ml de agua libre de cloro con un tiempo de coagulación de 25 a 35 minutos, se realiza el proceso de amasado y desuerado en moldes, posteriormente se añade sal y se procede a refrigerar el producto final.

La producción de requesón es un proceso similar a la fabricación de queso, incluye la pasteurización a una temperatura de 80 a 85°C durante 25-30 minutos. Durante el calentamiento, se lleva a cabo la homogenización del suero y se recoge la masa mediante escurrideras. Posteriormente, se envasa y se mantiene refrigerado para su venta.



Figura 9. Recolección de muestras del crecimiento del hongo.

4.1.1. Tratamiento de las muestras

Se tomaron 10 g de cada muestra y se diluyeron en 9 ml de agua destilada estéril en tubos cónicos de 15 ml. Seguidamente, las muestras se sometieron a autoclave a una temperatura de 121°C durante 15 minutos para asegurar su esterilización. Una vez, esterilizadas se dejan enfriar.

4.2. Elaboración de los medios de cultivo

Los medios de cultivo empleados para obtener *Penicillium ssp* son los siguientes:

Tabla 2. Tabla de medio de cultivo PDA.

Agar Papa Dextrosa (PDA)

Componente	g/L
Agar	7.8g
Agua destilada	200ml

Tabla 3. Tabla de medios de Cultivo Czapec Dox

Czapec Dox

Componente	g/L
Sacarosa	6g
Nitrato de Sodio	0.4g
Fosfato de Potasio	0.07g
Sulfato Ferroso	0.002g
Cloruro de Calcio	0.1g
Sulfato de Magnesio	0.1g
Agar	3g
Agua destilada	200ml

Se prepararon 200 ml de cada medio de cultivo con precisión. Después de pesar cada uno, se colocaron en matraces Erlenmeyer y se homogeneizaron por completo. Posteriormente, los cultivos se esterilizaron en autoclave a 121°C durante 15 minutos para su esterilización.

Una vez finalizada la esterilización, se enfriaron y se trasladaron a una cámara de flujo laminar. Con todos los materiales esterilizados, se dispuso el agar en cajas Petri y se etiquetó correspondientemente, para luego esperar a que se solidificara. Tras la solidificación del agar, se aisló el hongo tomando 100 μ L de muestras de queso y requesón, las cuales se sembraron en 5 cajas Petri de cada muestra. Estas cajas se incubaron a 28°C por 72 h para observar el desarrollo del micelio.

4.2.1. Aislamiento de los microorganismos del queso

El aislamiento se colocó en agar PDA utilizando la técnica de estriado, hubo crecimiento de cepas de levaduras. Por lo que se empleó en agar Czapek Dox para purificar las muestras sembrando directamente de las muestras esterilizadas ante mencionadas de queso y requesón por la técnica de estriado.

4.2.2. Selección

Una vez que se obtuvo el crecimiento de *Penicillium* sin contaminantes, se mantuvo en refrigeración. Luego, se procedió a inocular más muestras sembrando tres cepas en una caja Petri con agar Czapek Dox.

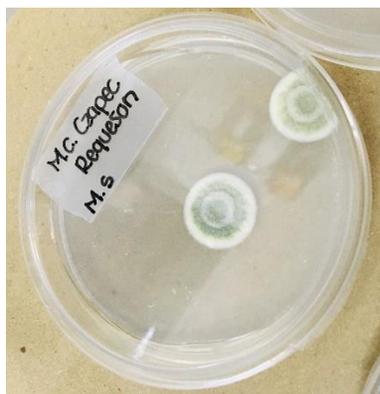


Figura 10. Selección del crecimiento de *Penicillium* en medio de cultivo Czapek Dox

4.2.3. Evaluación microscópica

Se realizó una evaluación utilizando tinción de azul metileno, la cual se emplea frecuentemente para teñir microorganismos y facilitar la observación de sus características morfológicas, forma, tamaño y disposición con mayor claridad. Para ello, se utilizó un

portaobjetos en el microscopio usando un aumento de 600x, donde se colocó una gota de metileno y se dispersó una muestra de micelio para su observación detalla.

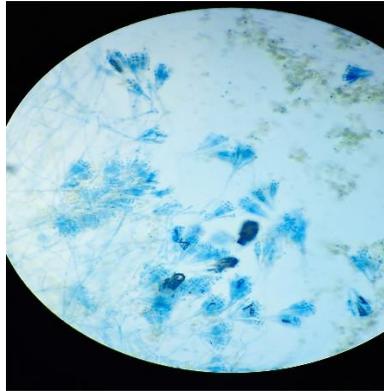


Figura 11. Evaluación microscopia de crecimiento del hongo.

4.2.4. Determinación de las características de *Penicillium*

Tras observar la cepa bajo el microscopio, se contrastaron los hallazgos con las características del *Penicillium sp*, un tipo de hongo filamentososo que se presenta un color gris-azulado. Este hongo puede exhibir diferentes tonos, como azul verdoso, y crece en estructuras ramificadas. Su característica más notable es su color y patrón de ramificación, lo que define como hongo *Penicillium*.

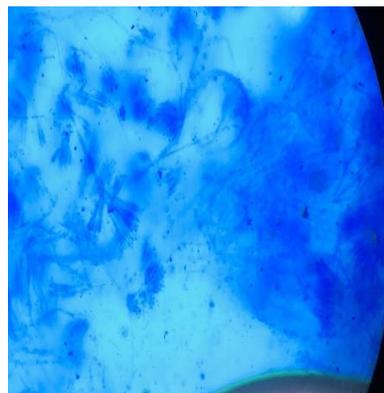


Figura 12. Determinación de características de *Penicillium*

4.2.5. Conservación de los hongos

Con el fin de preservar los hongos, se colocaron muestras del hongo en crecimiento en cajas Petri adicionales con agar Czapek Dox. Estas muestras se mantuvieron en refrigeración a 8°C, ya que a bajas temperaturas el crecimiento del hongo continuaba.

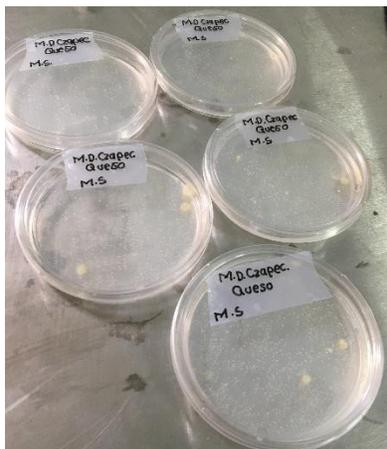


Figura 13. Conservación de Hongo en cajas Petri a temperatura de 8°C.

4.2.6. Cinética de producción de hongos

Se realizaron pruebas con muestras de leche de cabra que se colocaron en cuatro frascos de vidrio de 295 ml, los cuales fueron esterilizados en una autoclave a 121°C por 15 min. Después de la esterilización, se añadieron 50ml de leche a cada frasco, se inóculo una muestra de las cepas de queso y requesón. Los frascos fueron expuestos a dos temperaturas diferentes, 8°C y 28°C. se tomaron muestras cada 24 horas durante cinco días para analizar el color, pH, acidez y contenido de azúcares totales.



Figura 14. Cinética de producción de hongo.

4.2.7. Azúcares Totales

Para la aplicación del método Dubois (Método Fenol-Sulfúrico), se mezclaron 2ml de muestras con 2ml de fenol al 5% en tubos digestores se colocaron en una gradilla sumergida en un baño de agua fría. A los cuales se les añadieron 5 ml de H₂SO₄, se dejaron reposar por 15 min ebullición durante 10 minutos y se analizaron en un espectrofotómetro (BIOMASEEL-10^a) a una longitud de onda de 480nm (Dubois et al., 1956).

4.2.8. pH

Este método es altamente conveniente para llevar a cabo el análisis. Se utiliza un medidor de pH (HI98128) para determinar el pH de diversas muestras. Se añaden 5 ml de leche a un vaso de precipitado, se introduce el medidor y se obtienen los resultados.

4.2.9. Acidez Titulable

La acidez de la leche generalmente se determina por medio de un análisis volumétrico de titulación que emplea disoluciones patrón normalizadas de una base a modo de valorante (como el hidróxido de sodio de concentración 0,1 N) y fenolftaleína como indicador para poner en evidencia el punto final de la valoración (Kirk et al., 1996). Esta acidez se expresa como el porcentaje de ácido láctico presente en la muestra, y ronda valores de 0,15% a 0,16% en la leche fresca, siendo tolerable para efectos de industrialización un máximo de 0,18 % (Chacón, 2008).

La relación matemática para el porcentaje de ácido láctico en función del volumen de titulante empleado y los gramos de leche valorados se muestra en la ecuación 1 (Chacon, 2008):

$$\% \text{ Acido lactico} = \frac{ml_{NaOH\ 0,1\ N} * (0.0090 \pm 0.0059 + 100)}{g_{muestra}}$$

4.2.10. Color

La determinación del color de la leche se usó un colorímetro digital (3nH NR20XE) se calibro sobre una hoja blanca para interpretar el color según la escala de color CIE-L*a*b. se colocó en tres áreas de la muestra de leche y requesón así obteniendo los parámetros L*a*b.

5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1. Azúcares Totales

Los resultados del análisis de azúcares totales indican que, al inocular la cepa de hongo de queso a 8°C, los niveles de azúcares se mantienen constante. No obstante, a 28°C, se detecta una reducción en los azúcares a partir de las primeras 24 horas.

A continuación, se muestran los datos en la figura 15:

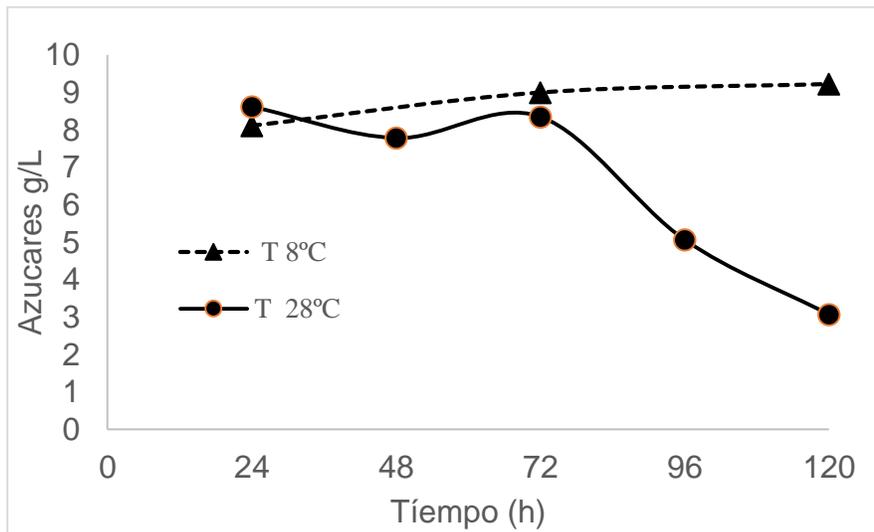


Figura 15. Diferencia de azúcares en la inoculación de cepa del queso a diferentes temperaturas

Como se muestra en la figura, se observa una diferencia de ambas temperaturas, sin embargo, los resultados más significativos se registran a 28°C, ya que esta temperatura es óptima para el crecimiento del hongo, ya que al disminuir azúcares los microorganismos crecen.

Los resultados del análisis de azúcares totales indican que, al inocular la cepa de hongo en requesón, a diferencia del queso, se observa una disminución significativa de los azúcares totales en ambas temperaturas desde las primeras 72 horas.

A continuación, se muestran los datos en la figura 16:

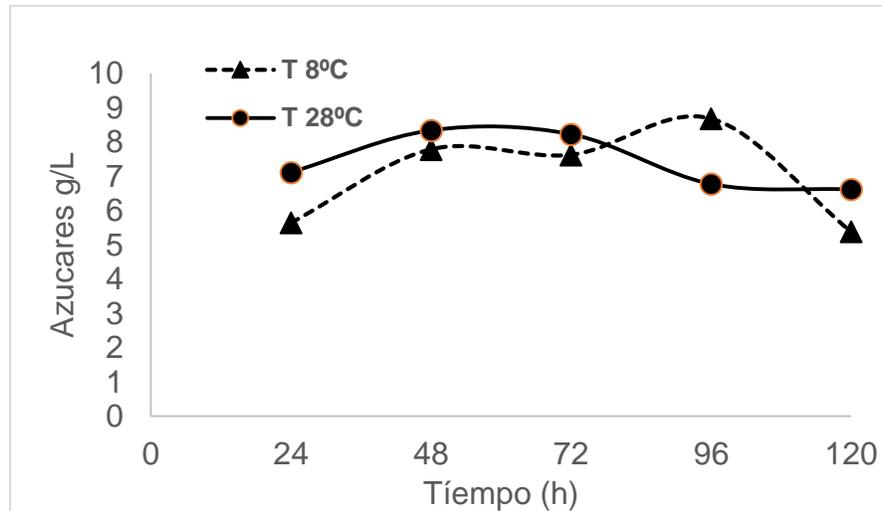


Figura 16. Diferencia de azúcares en la inoculación de cepa del requesón a diferentes temperaturas

Como se muestra en la figura, en ambas temperaturas se observa una disminución de azúcares. Esto sugiere que el aislamiento de la cepa de requesón en la inoculación de ambas con leche produce mejores resultados para el crecimiento del hongo *Penicillium*.

5.2. pH

Los resultados obtenidos en el análisis de pH al inocularse la cepa de hongo de queso indicaron que el pH de la leche se mantuvo estable en un rango de 6.4 a 6.8 a una temperatura de 8°C, siendo consistente con los valores reportados en la literatura para la leche de cabra, que oscilan un pH entre 6.5 y 6.8. Durante las primeras 72 horas a 28°C, el pH permaneció estable, pero experimentó una ligera disminución después de ese tiempo.

A continuación, se muestran los datos en la figura 17:

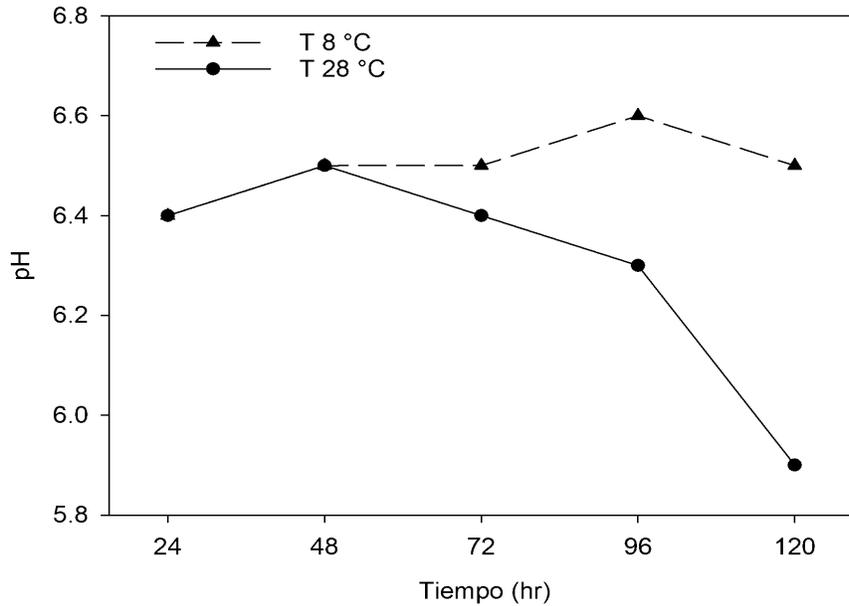


Figura 17. Diferencia de pH en la inoculación de cepa del queso a diferentes temperaturas.

Como se puede observar en la figura 17, el pH pudo ser afectado por la temperatura ya que la leche tiende a disminuir su pH al aumento de temperatura y hay crecimiento de microorganismos. Se puede inferir que, a temperaturas bajas, el pH de la leche permanece dentro de los valores establecidos.

En la figura 18 se muestra que, al realizar la inoculación con la cepa de hongo de requesón, el pH de la leche se mantuvo estable en un rango de 6.5 a 6.6 en ambas temperaturas, sin embargo, a 28°C, después de las primeras 96 horas, comenzó a disminuir, llegando a un pH de 5.9

A continuación, se muestran los datos en la figura 18:

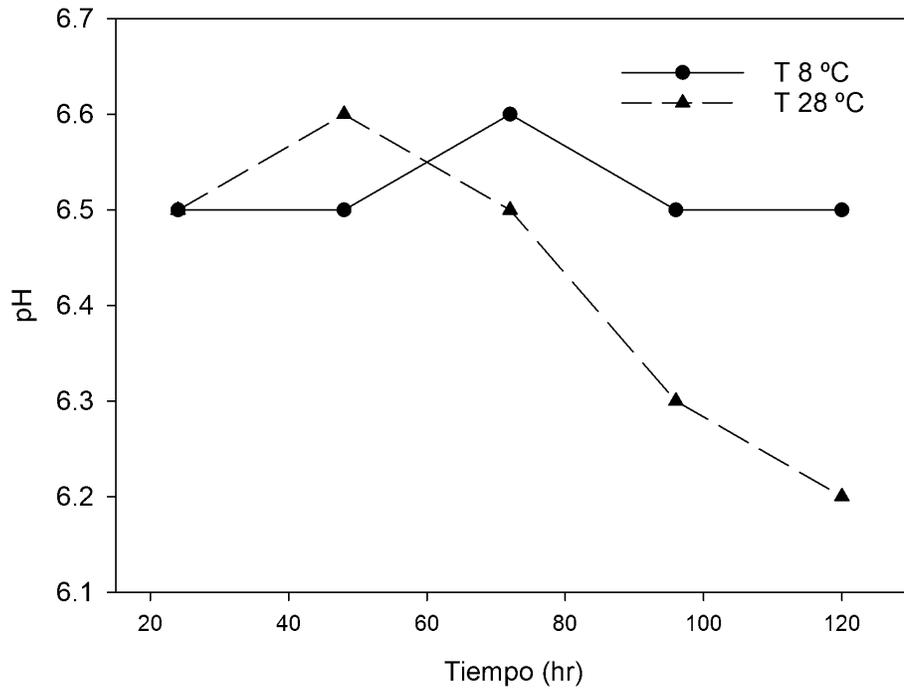


Figura 18. Diferencia de pH en la inoculación de cepa del requesón a diferentes temperaturas.

De acuerdo a los datos de la figura anterior la reducción de pH puede conducir al crecimiento de microorganismos que acidifican la leche y pueden provocar su coagulación, lo cual podría estar influenciado por la temperatura. A partir de la estabilidad del pH a 8°C, se puede deducir que esta temperatura es adecuada para producir un producto de alta calidad sin riesgo de contaminación.

5.3. Acidez Titulable

Los resultados obtenidos en el análisis de acidez titulable en la figura 19 se observa que, a una temperatura de 8°C, la acidez inicial es de 0.3. Con el transcurso de las horas, esta acidez aumenta a 0.6. Por otro lado, a 28°C, la acidez se mantiene entre 0.2 y 0.3. Después de 96 horas, se produce un ligero aumento a 0.4, y al cabo de 120 horas, la acidez vuelve a ser de 0.2.

A continuación, se muestran los datos en la figura 19:

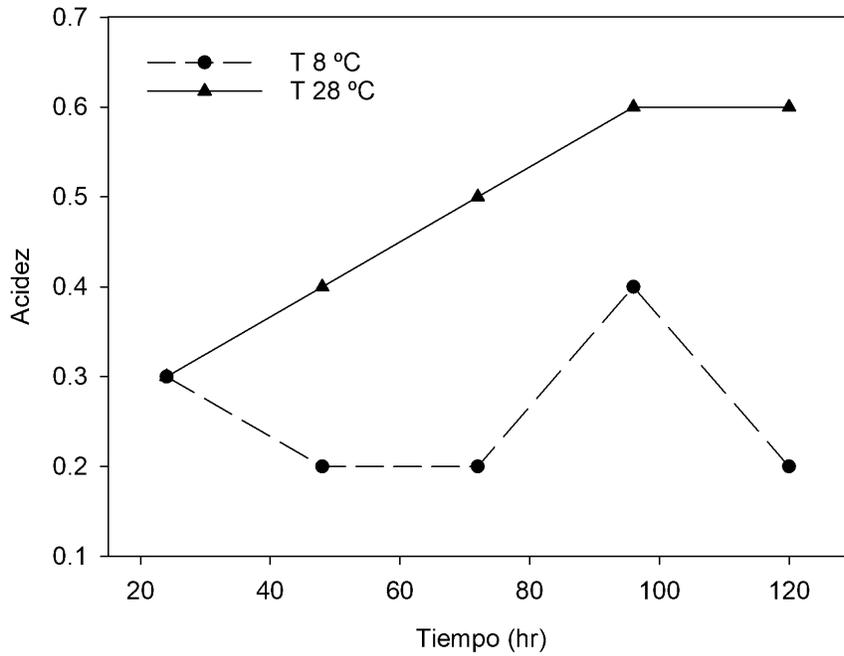


Figura 19. Comparación de acidez en inoculación de queso a diferentes temperaturas.

De acuerdo a los datos de la figura anterior, se observa un aumento en la acidez a 28°C, lo que podría indicar el desarrollo de bacterias. Por otro lado, a 8°C, la acidez se mantiene más estable, alcanzando un valor de 0.2 a las 120 horas. Esto sugiere que la temperatura óptima para mantener una acidez controlada y evitar contaminación durante el proceso del producto final es alrededor de 8°C.

En la figura 20 se observa, a una temperatura de 8°C, la acidez se sitúa en 0.30 a 0.40 durante las primeras 96 horas, para luego descender a 0.20 al alcanzar las 120 horas. Por otro lado, a 28°C, la acidez permanece entre 0.30 y 0.40 de las primeras 24 horas hasta las 120 horas.

A continuación, se muestran los datos en la figura 20:

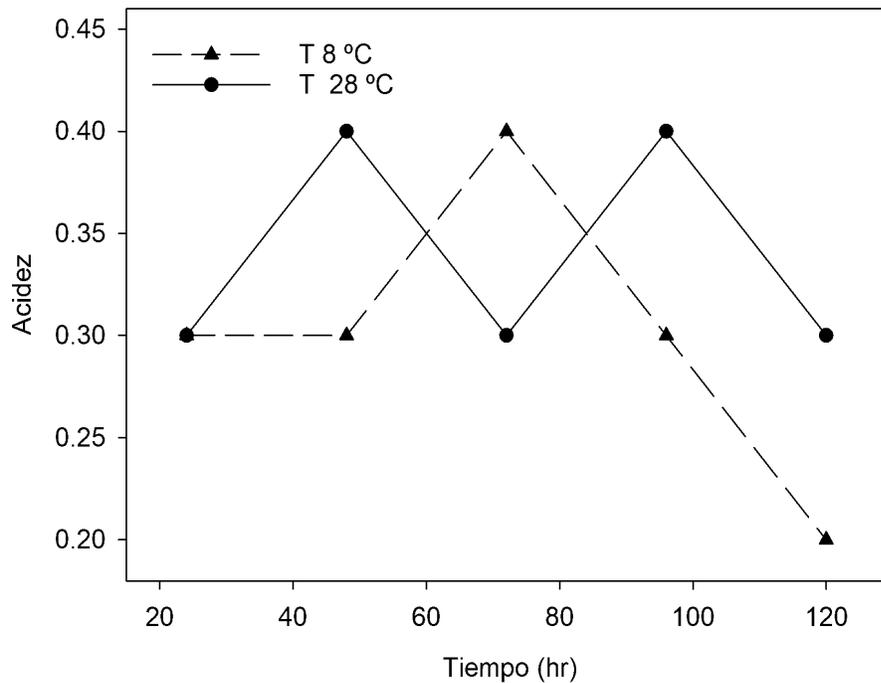


Figura 20. Comparación de acidez en inoculación de requesón a diferentes temperaturas.

De acuerdo a los datos de la figura anterior, tanto a 8°C como a 28°C, la acidez se mantiene entre 0.30 y 0.40, lo que sugiere una tendencia constante dentro de este intervalo. Este patrón es crucial para garantizar la calidad y seguridad de la leche en la elaboración del producto final.

5.4. Color

De acuerdo a los datos recopilados de la figura 21, los valores en el diagrama CIELAB se sitúan en el rango de 90-180°, lo que revela la presencia de un tono amarillo-verde. El color varía del gris verdoso claro al oscuro y puede incluir tonos grises, amarillentos y verde oliva; mientras que la textura de la colonia puede variar de aterciopelada a fasciculada. El tamaño del margen también puede variar mucho según la cepa (Coton et al., 2020).

A continuación, se muestran los datos en la figura 21:

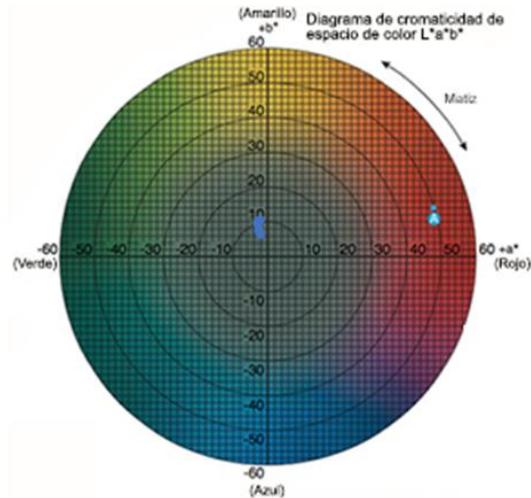


Figura 21. Color en la inoculación del crecimiento de hongo *Penicillium* del queso a 8°C. De acuerdo a los datos de la figura anterior, indica que el color del hongo *Penicillium* se encuentra en el color deseado en la temperatura 8°C empleada en este proyecto, lo que posibilita la obtención del producto deseado.

De acuerdo a los datos recopilados de la figura 22, los valores en el diagrama CIELAB se sitúan en el rango de 90-180°, acercándose ligeramente hacia el color amarillo.

A continuación, se muestran los datos en la figura 22:

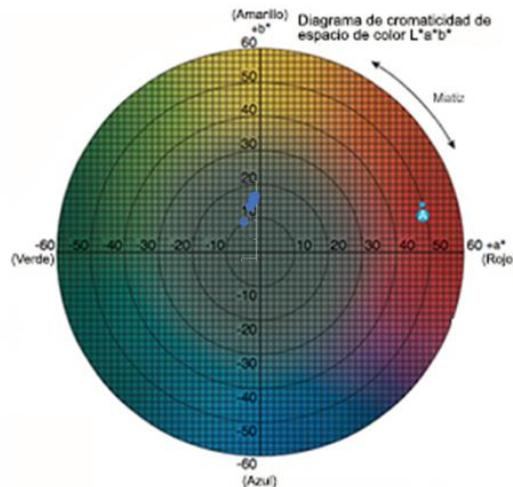


Figura 22. Color en la inoculación del crecimiento de hongo *Penicillium* del queso a 28°C

De acuerdo a los datos de la figura anterior, indica que el color del hongo *Penicillium* se encuentra en el color deseado en la temperatura 28°C, dado que el hongo presenta tonos amarillentos y permite la obtención del producto final.

De acuerdo a los datos recopilados de la figura 23, los valores en el diagrama CIELAB se sitúan en el rango de 90-180°, permaneciendo dentro de ese intervalo señalando por el olor amarillo-verde.

A continuación, se muestran los datos en la figura 23:

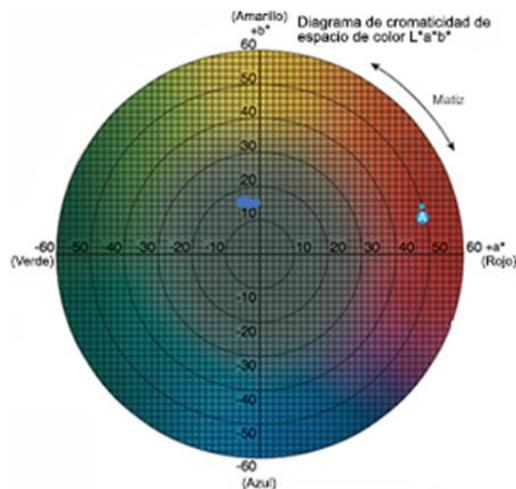


Figura 23.Color en la inoculación del crecimiento de hongo *Penicillium* del requesón a 8°C.

De acuerdo a los datos de la figura anterior, indica que el color del hongo *Penicillium* se encuentra en el color deseado en la temperatura 8°C, esto refiere a los valores óptimos de crecimiento de hongo necesarios para lograr el producto deseado en este proyecto.

De acuerdo a los datos recopilados de la figura 24, los valores en el diagrama CIELAB se sitúan en el rango de 90-180°, acercándose ligeramente al color amarillo-rojo.

A continuación, se muestran los datos en la figura 24:

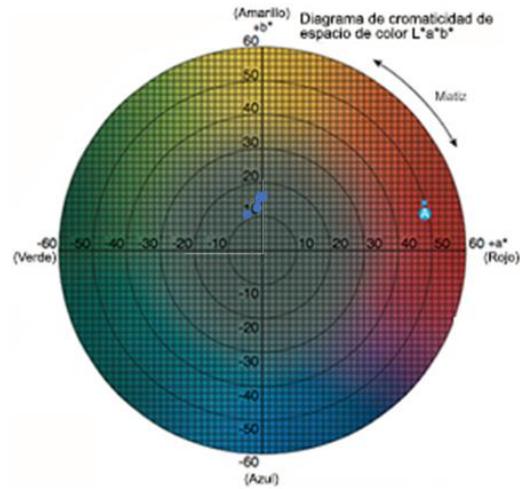


Figura 24. Color en la inoculación del crecimiento de hongo *Penicillium* del requesón a 28°C.

De acuerdo a los datos de la figura anterior, indica que el color del hongo *Penicillium* en el espectro de valores, se observa un leve desplazamiento hacia un tono amarillo-rojo, que no es el color deseado debido a la temperatura. En contraste, a temperaturas más bajas como 8°C, se mantiene dentro del rango de color deseado.

6. CONCLUSIONES

Se obtuvo de manera exitosa los análisis y la caracterización del *Penicillium* para la producción de productos innovadores que puedan utilizar este tipo de microorganismos.

Los análisis microbiológicos muestran que el pH es aceptable a una temperatura de 8°C, con valores entre 6.5 y 6.8, lo cual es favorable para evitar el crecimiento de microorganismos no deseados y lograr el producto final deseado, evitando impurezas y deterioro de la leche en la inoculación de la cepa de hongo *Penicillium*.

Respecto a los análisis de azúcares totales en ambas inoculaciones de requesón y queso, se han obtenido resultados significativos a una temperatura de 28°C. La reducción de azúcares indica la presencia y el crecimiento de microorganismos, lo cual es crucial para avanzar en el proceso y lograr un producto con similitud a quesos azules.

Así mismo, en cuanto a la acidez titulable en ambas temperaturas de inoculación de queso y requesón, se observaron similitudes. A 28°C, la acidez inicial de 0.3 aumenta a 0.6 con el tiempo, mientras que a 8°C se mantiene entre 0.2 y 0.3. Estos hallazgos sugieren un aumento en la acidez a 28°C, lo que causa desarrollo de bacterias. Por lo tanto, se recomienda que la temperatura óptima para controlar la acidez y prevenir la contaminación durante el proceso del producto final es alrededor de 8°C. De acuerdo con CIELAB, los ángulos están en el rango de 90° a 180°, los valores son aceptables a los del queso azul. Por lo tanto, se puede deducir que las muestras de requesón y queso contienen la presencia del hongo *Penicillium*, ya que este hongo muestra tonalidades similares como gris, verde y azul.

7. LITERATURA CITADA

- Amigo, L., & Fontecha, J. (2002). *Goat Milk* (Vol. 2).
- Andino Gualpa, L. V., & Guasgua Mipaz, F. R. (2021). *Evaluación in vitro de la actividad antagonista de las bacterias ácido-lácticas aisladas de alimentos fermentados sobre *Penicillium sp* y *Aspergillus sp* de granos de quinua*. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/15411>
- Briggiler-Marcó, M., Capra, M. L., Quiberoni, A., Vinderola, G., Reinheimer, J. A., & Hynes, E. (2007). Nonstarter Lactobacillus Strains as Adjunct Cultures for Cheese Making: In Vitro Characterization and Performance in Two Model Cheeses. *Journal of Dairy Science*, 90(10), 4532–4542. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0180>
- Carpenter, P. L. (1979). *Microbiología* (Interamericana, Ed.; 4th ed.).
- Carr, F. J., Chill, D., & Maida, N. (2002). The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28(4), 281–370. <https://doi.org/10.1080/1040-840291046759>
- Chacon, A. (2008). Generalidades sobre la evaluación de la calidad de la leche en la agroindustria láctea. *Actualidad Zootécnica*, 3, 38–47.
- Chandan, R. C., Charles H. White, Arun Kilara, & Y. H. Hui. (2006). *Manufacturing yogurt and fermented milks*. Blackwell Pub.
- Chen, T., Yuan, F., Wang, H., Tian, Y., He, L., Shao, Y., Li, N., & Liu, Z. (2016). Perilla Oil Supplementation Ameliorates High-Fat/High-Cholesterol Diet Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Rats via Enhanced Fecal Cholesterol and Bile Acid Excretion. *BioMed Research International*, 2016, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2016/2384561>
- Coppola, S., Fusco, V., Andolfi, R., Aponte, M., Blaiotta, G., Ercolini, D., & Moschetti, G. (2006). Evaluation of microbial diversity during the manufacture of Fior di Latte di Agerola, a traditional raw milk pasta-filata cheese of the Naples area. *Journal of Dairy Research*, 73(3), 264–272. <https://doi.org/10.1017/S0022029906001804>

- Coton, E., Coton, M., Hymery, N., Mounier, J., & Jany, J.-L. (2020). *Penicillium roqueforti*: an overview of its genetics, physiology, metabolism and biotechnological applications. *Fungal Biology Reviews*, *34*(2), 59–73. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2020.03.001>
- de Medeiros, P., Pinto, D., de Almeida, J., Rêgo, J., Rodrigues, F., Lima, A., Bolick, D., Guerrant, R., & Oriá, R. (2018). Modulation of Intestinal Immune and Barrier Functions by Vitamin A: Implications for Current Understanding of Malnutrition and Enteric Infections in Children. *Nutrients*, *10*(9), 1128. <https://doi.org/10.3390/nu10091128>
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, *28*(3), 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Frisvad, J., & Samson, R. (2004). Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and airborne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. *Studies in Mycology*, *2004*, 1–173.
- G, G., A, M., A, W., & H, K. (2016). Review on Goat Milk Composition and its Nutritive Value. *Journal of Nutrition and Health Sciences*, *3*(4). <https://doi.org/10.15744/2393-9060.3.401>
- Gillot, G., Jany, J.-L., Coton, M., Le Floch, G., Debaets, S., Ropars, J., López-Villavicencio, M., Dupont, J., Branca, A., Giraud, T., & Coton, E. (2015). Insights into *Penicillium roqueforti* Morphological and Genetic Diversity. *PLOS ONE*, *10*(6), e0129849. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129849>
- Giraud, F., Giraud, T., Aguilera, G., Fournier, E., Samson, R., Cruaud, C., Lacoste, S., Ropars, J., Tellier, A., & Dupont, J. (2010). Microsatellite loci to recognize species for the cheese starter and contaminating strains associated with cheese manufacturing. *International Journal of Food Microbiology*, *137*(2–3), 204–213. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.014>
- Gore, E., Mardon, J., Guerinon, D., & Lebecque, A. (2016). Exploratory study of acid-forming potential of commercial cheeses: impact of cheese type. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *67*(4), 412–421. <https://doi.org/10.3109/09637486.2016.1166188>

- Hickey, C. D., O'Sullivan, M. G., Davis, J., Scholz, D., Kilcawley, K. N., Wilkinson, M. G., & Sheehan, J. J. (2018). The effect of buttermilk or buttermilk powder addition on functionality, textural, sensory and volatile characteristics of Cheddar-style cheese. *Food Research International*, *103*, 468–477. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.081>
- Huang, W.-C., Tsai, T.-H., Chuang, L.-T., Li, Y.-Y., Zouboulis, C. C., & Tsai, P.-J. (2014). Anti-bacterial and anti-inflammatory properties of capric acid against *Propionibacterium acnes*: A comparative study with lauric acid. *Journal of Dermatological Science*, *73*(3), 232–240. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2013.10.010>
- Kirk, R. S., Egan, H., & Sawyer, R. (1996). *Composición y análisis de los alimentos de Pearson*. Grupo Patria Cultural S.A. DE C.V. <https://books.google.com.mx/books?id=HYTwPgAACAAJ>
- Kongo, J. M., & Malcata, F. X. (2016). Cheese: Types of Cheeses - Soft. In *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 768–773). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00132-X>
- Kourkoutas, Y., Bosnea, L., Taboukos, S., Baras, C., Lambrou, D., & Kanellaki, M. (2006). Probiotic Cheese Production Using *Lactobacillus casei* Cells Immobilized on Fruit Pieces. *Journal of Dairy Science*, *89*(5), 1439–1451. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72212-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72212-3)
- López-Díaz, T.-M., Santos, J.-A., García-López, M.-L., & Otero, A. (2001). Surface mycoflora of a Spanish fermented meat sausage and toxigenicity of *Penicillium* isolates. *International Journal of Food Microbiology*, *68*(1–2), 69–74. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00472-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00472-X)
- Lorenzo, J. M., Munekata, P. E., Dominguez, R., Pateiro, M., Saraiva, J. A., & Franco, D. (2018). Chapter 3 - Main Groups of Microorganisms of Relevance for Food Safety and Stability: General Aspects and Overall Description. In F. J. Barba, A. S. Sant'Ana, V. Orlien, & M. Koubaa (Eds.), *Innovative Technologies for Food Preservation* (pp. 53–

- 107). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811031-7.00003-0>
- Lucey, J. A., & Fox, P. F. (1993). Importance of Calcium and Phosphate in Cheese Manufacture: A Review. *Journal of Dairy Science*, 76(6), 1714–1724. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77504-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77504-9)
- Ludemann, V., Greco, M., Rodríguez, M. P., Basílico, J. C., & Pardo, A. G. (2010). Conidial production by *Penicillium nalgiovense* for use as starter cultures in dry fermented sausages by solid state fermentation. *LWT - Food Science and Technology*, 43(2), 315–318. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.07.011>
- Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., Foligné, B., Gänzle, M., Kort, R., Pasin, G., Pihlanto, A., Smid, E. J., & Hutkins, R. (2017). Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Current Opinion in Biotechnology*, 44, 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.11.010>
- Markey, O., Vasilopoulou, D., Kliem, K. E., Koulman, A., Fagan, C. C., Summerhill, K., Wang, L. Y., Grandison, A. S., Humphries, D. J., Todd, S., Jackson, K. G., Givens, D. I., & Lovegrove, J. A. (2017). Plasma phospholipid fatty acid profile confirms compliance to a novel saturated fat-reduced, monounsaturated fat-enriched dairy product intervention in adults at moderate cardiovascular risk: a randomized controlled trial. *Nutrition Journal*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12937-017-0249-2>
- Mayo, B., Ammor, M., Delgado, S., & Alegría, Á. (2010). Fermented Milk Products. In *Fermented Foods and Beverages of the World* (pp. 263–288). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/EBK1420094954-c9>
- Mohan, M. S., Anand, S., Kalscheur, K. F., Hassan, A. N., & Hippen, A. R. (2013). Starter cultures and cattle feed manipulation enhance conjugated linoleic acid concentrations in Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 96(4), 2081–2094. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6101>
- Mucchetti, G., Bonvini, B., Remagni, M. C., Ghiglietti, R., Locci, F., Barzagli, S., Francolino, S., Perrone, A., Rubiloni, A., Campo, P., Gatti, M., & Carminati, D. (2008). Influence of cheese-making technology on composition and microbiological

- characteristics of Vastedda cheese. *Food Control*, 19(2), 119–125.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.02.011>
- Muir, D. D. (2011). The stability and shelf life of milk and milk products. In *Food and Beverage Stability and Shelf Life* (pp. 755–778). Elsevier.
<https://doi.org/10.1533/9780857092540.3.755>
- Parente, E., & Cogan, T. M. (2004). *Starter Cultures: General Aspects* (pp. 123–147).
[https://doi.org/10.1016/S1874-558X\(04\)80065-4](https://doi.org/10.1016/S1874-558X(04)80065-4)
- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). *Fungi and Food Spoilage*. Springer US.
<https://doi.org/10.1007/978-0-387-92207-2>
- Quigley, L., O’Sullivan, O., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., & Cotter, P. D. (2011). Molecular approaches to analysing the microbial composition of raw milk and raw milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 150(2–3), 81–94.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.08.001>
- Reif, G. D., Shahani, K. M., Vakil, J. R., & Crowe, L. K. (1976). Factors Affecting B-Complex Vitamin Content of Cottage Cheese. *Journal of Dairy Science*, 59(3), 410–415. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(76\)84221-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(76)84221-X)
- Rozenberg, S., Body, J.-J., Bruyère, O., Bergmann, P., Brandi, M. L., Cooper, C., Devogelaer, J.-P., Gielen, E., Goemaere, S., Kaufman, J.-M., Rizzoli, R., & Reginster, J.-Y. (2016). Effects of Dairy Products Consumption on Health: Benefits and Beliefs—A Commentary from the Belgian Bone Club and the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases. *Calcified Tissue International*, 98(1), 1–17. <https://doi.org/10.1007/s00223-015-0062-x>
- Sánchez Jáuregui, C. E., & Zhiminaicela Sánchez, J. M. (2018). *AISLAMIENTO Y PURIFICACION DE CEPAS DE PENICILLIUM APLICABLES EN PROCESOS BIOTECNOLOGICOS DE LACTEOS* [Universidad del Uzuay].
<http://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/7385>

- Santiago-López, L., Aguilar-Toalá, J. E., Hernández-Mendoza, A., Vallejo-Cordoba, B., Liceaga, A. M., & González-Córdova, A. F. (2018). Invited review: Bioactive compounds produced during cheese ripening and health effects associated with aged cheese consumption. *Journal of Dairy Science*, *101*(5), 3742–3757. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13465>
- Silva, H. L. A., Balthazar, C. F., Rocha, R. S., Moraes, J., Esmerino, E. A., Silva, M. C., Raices, R. S. L., Pimentel, T. C., Freitas, M. Q., & Cruz, A. G. (2018). Sodium reduction and flavor enhancers addition: is there an impact on the availability of minerals from probiotic Prato cheese? *LWT*, *93*, 287–292. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.053>
- Suzuki-Iwashima, A., Matsuura, H., Iwasawa, A., & Shiota, M. (2020). Metabolomics analyses of the combined effects of lactic acid bacteria and *Penicillium camemberti* on the generation of volatile compounds in model mold-surface-ripened cheeses. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, *129*(3), 333–347. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2019.09.005>
- Szilagyi, A., & Ishayek, N. (2018). Lactose Intolerance, Dairy Avoidance, and Treatment Options. *Nutrients*, *10*(12), 1994. <https://doi.org/10.3390/nu10121994>
- Tamang, J. P., & Kailasapathy, K. (2010). *Fermented Foods and Beverages of the World* (J. P. Tamang & K. Kailasapathy, Eds.; 1ra edición). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/EBK1420094954>
- Tamang, J. P., Watanabe, K., & Holzapfel, W. H. (2016). Review: Diversity of Microorganisms in Global Fermented Foods and Beverages. *Frontiers in Microbiology*, *7*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00377>
- Trancoso-Reyes, N., Gutiérrez-Méndez, N., Sepulveda, D. R., & Hernández-Ochoa, L. R. (2014). Assessing the yield, microstructure, and texture properties of miniature Chihuahua-type cheese manufactured with a phospholipase A1 and exopolysaccharide-producing bacteria. *Journal of Dairy Science*, *97*(2), 598–608. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6624>

- Ugidos-Rodríguez, S., Matallana-González, M. C., & Sánchez-Mata, M. C. (2018). Lactose malabsorption and intolerance: a review. *Food & Function*, 9(8), 4056–4068. <https://doi.org/10.1039/C8FO00555A>
- Vacca, G. M., Stocco, G., Dettori, M. L., Summer, A., Cipolat-Gotet, C., Bittante, G., & Pazzola, M. (2018). Cheese yield, cheesemaking efficiency, and daily production of 6 breeds of goats. *Journal of Dairy Science*, 101(9), 7817–7832. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14450>
- Verruck, S., Balthazar, C. F., Rocha, R. S., Silva, R., Esmerino, E. A., Pimentel, T. C., Freitas, M. Q., Silva, M. C., da Cruz, A. G., & Prudencio, E. S. (2019). *Chapter Three - Dairy foods and positive impact on the consumer's health* (F. Toldrá, Ed.; Vol. 89, pp. 95–164). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.03.002>
- Visagie, C. M., Houbraken, J., Frisvad, J. C., Hong, S.-B., Klaassen, C. H. W., Perrone, G., Seifert, K. A., Varga, J., Yaguchi, T., & Samson, R. A. (2014). Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in Mycology*, 78(1), 343–371. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.001>
- Wang, Y., Zeng, H., Qiu, S., Han, H., & Wang, B. (2024). Identification of key aroma compounds and core functional microorganisms associated with aroma formation for *Monascus*-fermented cheese. *Food Chemistry*, 434, 137401. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137401>
- Zheng, X., Shi, X., & Wang, B. (2021). A Review on the General Cheese Processing Technology, Flavor Biochemical Pathways and the Influence of Yeasts in Cheese. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 12). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.703284>
- Zhu, C., Zhao, J., Tian, W., Liu, Y., Li, M., & Zhao, G. (2018). Contribution of Histidine and Lysine to the Generation of Volatile Compounds in Jinhua Ham Exposed to Ripening Conditions Via Maillard Reaction. *Journal of Food Science*, 83(1), 46–52. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13996>

