



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA EN TECNOLOGÍA Y  
DISEÑO DEL ESTADO DE JALISCO, A.C.**

---

**IDENTIFICACIÓN DE LA CAPACIDAD BIOTRANSFORMADORA, DE  
BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS NATIVAS DE TRES PRODUCTOS  
ARTESANALES (QUESO ADOBERA, TEJUINO Y PULQUE) PARA  
CONVERTIR ÁCIDO LINOLEICO EN ÁCIDO LINOLEICO  
CONJUGADO**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA**

**EN LA ESPECIALIDAD DE  
PROCESOS AGROINDUSTRIALES**

**PRESENTA**

**ING. A. SANDRA JIMENEZ ESPINOZA**

**GUADALAJARA, JAL. MARZO 2017**





Guadalajara, Jalisco a 08 de Marzo de 2017

CONSEJO INSTITUCIONAL DE POSGRADO  
DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA EN TECNOLOGÍA Y DISEÑO  
DEL ESTADO DE JALISCO, A.C.  
PRESENTE

Los abajo firmantes miembros del comité tutorial de la estudiante **Sandra Jiménez Espinoza**, una vez leída y revisada la Tesis titulada **"IDENTIFICACIÓN DE LA CAPACIDAD BIOTRANSFORMADORA, DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS NATIVAS DE TRES PRODUCTOS ARTESANALES (QUESO ADOBERA, TEJUINO Y PULQUE) PARA CONVERTIR ÁCIDO LINOLEICO EN ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO"** aceptamos que la referida tesis revisada y corregida sea presentada por la estudiante para aspirar al grado de Maestro en Posgrado Interinstitucional en Ciencia y Tecnología con terminación en Proceso Agroindustriales durante el examen correspondiente.

Y para que así conste firmamos la presente al día 08 del mes de Marzo del año dos mil diecisiete.

**Dra. María Dolores García Parra**  
*Director de tesis/tutor académico*

**Dra. Eugenia Del Carmen Lugo Cervantes**  
*Co-director de tesis/tutor en planta*

**Dra. Socorro Josefina Villanueva Rodríguez**  
*Asesor/Asesora*



Guadalajara, Jalisco a 16 de Marzo del 2017

**CONSEJO GENERAL DEL POSGRADO  
INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA  
PRESENTE**

Los abajo firmantes miembros del Jurado del Examen de Grado de la estudiante Sandra Jiménez Espinoza una vez leída y revisada la Tesis titulada "IDENTIFICACIÓN DE LA CAPACIDAD BIOTRANSFORMADORA, DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS NATIVAS DE TRES PRODUCTOS ARTESANALES (QUESO ADOBERA, TEJUINO Y PULQUE) PARA CONVERTIR ÁCIDO LINOLEICO EN ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO" aceptamos que la referida tesis revisada y corregida sea presentada por la estudiante para aspirar al grado de Maestro en Ciencia y Tecnología en la opción terminal Procesos Agroindustriales durante el examen correspondiente.

Y para que así conste firmamos la presente a los 16 del mes de Marzo del año 2017

Dra. Mirna Estarrón Espinosa  
*Presidente*

Dra. Sanghamitra Khandual  
*Secretario*

Dra. María Dolores García Parra  
*Vocal*

**IDENTIFICACIÓN DE LA CAPACIDAD  
BIOTRANSFORMADORA, DE BACTERIAS ÁCIDO  
LÁCTICAS NATIVAS DE TRES PRODUCTOS  
ARTESANALES (QUESO ADOBERA, TEJUINO Y PULQUE)  
PARA CONVERTIR ÁCIDO LINOLEICO EN ÁCIDO  
LINOLEICO CONJUGADO**

**COMITÉ TUTORIAL:**

**DIRECTORA: DRA. MA. DOLORES GARCÍA PARRA**

**CODIRECTORA: DRA. EUGENIA DEL CARMEN LUGO CERVANTES**

**ASESORA: DRA. SOCORRO JOSEFINA VILLANUEVA RODRÍGUEZ**

*"Un científico en su laboratorio no es sólo un técnico: es también un niño colocado ante fenómenos naturales que le impresionan como un cuento de hadas".*

**Marie Curie.**

## *Dedicatorías*

A:

Mis padres y ejemplos de vida Elena y Pedro por su confianza, amor, respeto y apoyo en todo momento, sin importar la distancia siempre estuvieron conmigo y me dieron fortaleza para culminar este trabajo.

Mi hermano Javier por ser mi cómplice de vida, por su amor, confianza, respeto, apoyo y paciencia.

Luis Jorge por apoyarme en los momentos complicados y en los momentos buenos, por estar a mi lado como un gran amigo y compañero de vida.

Mi abuelita, a mis tíos, mis primos y el resto de la familia que a pesar de no estar juntos nos apoyamos a distancia,

Mis abuelos que ya no están con nosotros porque siempre creyeron en mí, en mis metas y sueños, aunque ya no están a mi lado me dejaron grandes enseñanzas.

## *Agradecimientos*

Una tesis no se logra con una sola persona, implica de un trabajo en equipo, apoyo y enseñanzas de muchas más personas, es por eso que agradezco infinitamente a todos quienes me apoyaron para lograr este trabajo.

A Dios por darme familia, amigos y compañeros, por darme día a día vida, salud y sabiduría.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca de maestría, al Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y diseño del Estado de Jalisco A. C. (CIATEJ) y al Posgrado Interinstitucional en Ciencia y Tecnología (PICyT), por el apoyo institucional brindado.

A la Dra. María. Dolores García Parra, a la Dra. Socorro Josefina Villanueva Rodríguez, a la Dra. Eugenia del Carmen Lugo Cervantes y a la Dra. Mirna Estarrón Espinosa por su apoyo como guías para la elaboración de este proyecto, por todas sus enseñanzas y exigencias, pero sobre todo por su confianza y tiempo que dedicaron cada una de ellas para poder lograr entregar este trabajo.

A Isabel Alavez y a su familia por todo su apoyo incondicional, cariño y amistad brindada.

A Isaias, Lym, Noe, Fany, Brenda, Mari Carmen, Olivia, Luisa, por su apoyo, cariño y amistad.

A unas grandes personas Jesus, Adan, Gaby, Rogelio, Sheila, Rosa Lilia, Jazmin y Laura, que se convirtieron en mi familia.

A mis compañeros de CIATEJ del área de Tecnología Alimentaria por su apoyo dentro y fuera del centro, por su confianza, compañerismo y enseñanzas.

A todas las personas de CIATEJ por apoyarme cuando necesite de ellos.

A cada uno de los Maestros y Doctores que me impartieron clases por sus enseñanzas, conocimientos, paciencia y apoyo brindado.

MIL GRACIAS A TODOS !!!



## Resumen

El Ácido Linoleico Conjugado (CLA) ha recibido gran interés debido a los estudios sobre los efectos benéficos en la salud humana, las Bacterias Ácido Lácticas (BAL), aisladas de alimentos fermentados han sido identificadas como bacterias con capacidad de biotransformar el Ácido Linoleico (LA) en CLA. En este estudio se buscó identificar la capacidad biotransformadora de BAL nativas de tres productos artesanales (Queso Adobera, Tejuino y Pulque) para convertir AL en CLA. Se aislaron e identificaron 30 BAL nativas de Queso Adobera, Tejuino y Pulque, encontrando cuatro especies diferentes *L. fermentum* y *L. plantarum* en los tres productos, *L. pantheris* en Tejuino y Pulque y *L. brevis* en Pulque. Las 30 BAL nativas de los tres productos presentaron capacidad de biotransformar LA en CLA en medio de cultivo MRS, la especie que tuvo una mayor biotransformación fue la *L. brevis* con 24.09 mg/L de CLA *cis*-9, *trans*-11 y 17.9 mg/L de CLA *trans*-10, *cis*-12 aislada de Pulque, la que tuvo menor biotransformación fue la *L. fermentum* 0.25 mg/L del isómero de CLA *cis*-9, *trans*-11 y 3.50 mg/L del isómero de CLA *trans*-10, *cis*-12. Se seleccionaron las BAL que presentaron una mayor biotransformación de cada especie, para identificar si en su matriz de origen, lograban biotransformar el LA en CLA. En la matriz de Queso Adobera no se obtuvo ninguna biotransformación de CLA. En la matriz de Tejuino tres muestras lograron llevar a cabo la biotransformación, *L. pantheris* (1.8 mg/L del isómero de CLA *cis*-9, *trans*-11 y 1.17 mg/L del isómero de CLA *trans*-10, *cis*-12), la Mezcla de BAL (0.76 mg/L del isómero de CLA *cis*-9, *trans*-11 y 0.92 mg/L del isómero de CLA *trans*-10, *cis*-12) y el Inóculo (Tejuino previamente producido), (0.17 mg/L del isómero de CLA *trans*-10, *cis*-12). En la matriz de Pulque todas las muestras estudiadas llevaron a cabo la biotransformación de CLA, el inóculo (pulque producido en Hidalgo) fue el que llevo a cabo la mayor biotransformación con 5.52 mg/L del isómero de CLA *cis*-9, *trans*-11 y 2.19 mg/L del isómero de CLA *trans*-10, *cis*-12, y la de menor fue la *L. plantarum* con 0.56 del isómero de CLA *cis*-9, *tran*-11. Las BAL nativas aisladas de los tres productos fueron capaces de biotransformar LA en CLA en medio de cultivo MRS, en las matrices de los productos no todas las BAL seleccionadas llevaron a cabo la biotransformación de LA a CLA.

## Índice de contenido

<b>Resumen</b> .....	<b>8</b>
<b>Índice de contenido</b> .....	<b>9</b>
<b>Índice de tablas</b> .....	<b>12</b>
<b>Índice de figuras</b> .....	<b>14</b>
<b>Abreviaturas</b> .....	<b>16</b>
<b>1. Introducción</b> .....	<b>17</b>
<b>2. Antecedentes</b> .....	<b>19</b>
2.1 Ácido linoleico .....	20
2.2 Ácido linoleico conjugado .....	20
2.3 Bacterias ácido lácticas biotransformadoras de AL en CLA .....	22
2.4 Alimentos fermentados artesanales .....	24
2.5 Queso Adobera .....	26
2.6 Tejuino .....	27
2.7 Pulque .....	28
<b>3. Planteamiento del problema</b> .....	<b>32</b>
<b>4. Justificación</b> .....	<b>33</b>
<b>5. Hipótesis</b> .....	<b>34</b>
<b>6. Objetivo general</b> .....	<b>35</b>
6.1. Objetivos específicos .....	35
<b>7. Metodología</b> .....	<b>36</b>
7.1 Metodología general .....	37
7.2 Selección de productos fermentados artesanales .....	38
7.3 Caracterización fisicoquímica de Queso adobera, Tejuino y Pulque .....	38
7.6 Determinación del perfil lipídico de Queso Adobera y Tejuino por cromatografía de gases .....	42
7.8 Análisis de perfil lipídico mediante cromatografía de gases .....	43
7.9 Calidad microbiológica de productos artesanales .....	43
7.10 Aislamiento de bacterias lácticas de productos fermentados artesanales .....	44
7.11 Pruebas bioquímicas primarias de BAL nativas .....	45
7.12 Identificación de bacterias lácticas .....	46

7.13 Identificación de BAL con capacidad de biotransformación de LA en CLA en medio de cultivo MRS. ....	47
7.14 Extracción de grasa a las muestras de BAL en medio de cultivo .....	47
7.15 Metilación de grasa .....	47
7.16 Determinación de CLA por cromatografía de gases .....	48
7.18 Capacidad de biotransformación de bacterias lácticas nativas en una matriz láctea de Queso Adobera (Cuajada).....	48
7.19 Capacidad de biotransformación de bacterias lácticas nativas en una matriz Tejuino (Tejuino sin fermentar). ....	50
7.20 Capacidad de biotransformación de bacterias lácticas nativas en la matriz de Pulque (Aguamiel) .....	51
7.21 Metilación de grasa de matrices.....	53
7.22 Determinación de CLA por cromatografía de gases .....	53
7.23 Análisis estadístico.....	53
<b>8. Resultados .....</b>	<b>54</b>
8.1 Caracterización fisicoquímica de productos fermentados artesanales .....	55
8.2 Perfil lipídico de Queso Adobera y Tejuino .....	56
8.5 Pruebas bioquímicas primarias de BAL nativas de Queso Adobera .....	61
8.6 Identificación de género y especie de BAL nativas aisladas de Queso Adobera, Tejuino y Pulque.....	63
8.7 Identificación de la capacidad biotransformadora de LA en CLA de las BAL nativas de Queso Adobera en medio MRS.....	65
8.8 Identificación de la capacidad biotransformadora de LA en CLA de las BAL nativas, de Tejuino en medio MRS. ....	67
8.9 Identificación de la capacidad biotransformadora de LA en CLA de las BAL nativas, de Pulque en medio MRS.....	69
8.10 Cambios fisicoquímicos producidos por las BAL nativas durante la biotransformación en medio MRS .....	71
8.11 Análisis microbiológico de BAL nativas durante la biotransformación de LA en CLA en medio MRS. ....	73
8.12 Capacidad de BAL seleccionadas de biotransformar AL en CLA en las matrices de los productos de origen (Queso Adobera para fundir, Tejuino y Pulque). ....	75
8.13 Biotransformación LA en CLA de BAL seleccionadas en una matriz de Queso tipo Adobera (Cuajada) .....	76

8.14 Análisis microbiológico en matriz de Queso Adobera .....	76
8.15 Composición fisicoquímica de matriz de Queso Adobera (Cuajada).....	77
8.16 Biotransformación de LA en CLA de BAL seleccionadas en la matriz de Tejuino (Tejuino sin fermentar) .....	78
8.17 Análisis microbiológico en matriz de Tejuino.....	79
8.18 Composición fisicoquímica de la matriz de Tejuino. ....	80
8.19 Biotransformación de LA en CLA de BAL seleccionadas en la matriz Pulque (Aguamiel) .....	80
8.20 Análisis microbiológico en matriz de Pulque .....	81
8.21 Composición fisicoquímica de matriz de Pulque (Aguamiel). ....	82
<b>9. Conclusiones.....</b>	<b>85</b>
<b>10. Perspectivas.....</b>	<b>86</b>
<b>11. Bibliografía.....</b>	<b>87</b>
<b>12. Anexos.....</b>	<b>94</b>
Anexo 1 .....	95
Anexo 2 .....	103
Anexo 3 .....	108
Anexo 4.....	109
Anexo 6.....	123
Anexo 7.....	125
Anexo 8.....	128
Anexo 9.....	135

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Producción de CLA por BAL en medio fortificado con una fuente de LA.....	17
<b>Tabla 2.</b> Diseño experimental de biotransformación a CLA en una matriz láctea.....	43
<b>Tabla 3.</b> Diseño de experimentos BAL nativas del Tejuino en una matriz de Tejuino.....	44
<b>Tabla 4.</b> Diseño de experimentos BAL nativas de Pulque en una matriz Aguamiel.....	46
<b>Tabla 5.</b> Caracterización fisicoquímica de los productos comerciales artesanales.....	49
<b>Tabla 6.</b> Perfil lipídico de Queso Adobera y Tejuino (% de área).....	50-51
<b>Tabla 7.</b> Calidad microbiología de los productos artesanales.....	53
<b>Tabla 8.</b> Colonias aisladas de cada producto (Queso Adobera, Tejuino y Pulque).....	54
<b>Tabla 9.</b> Caracterización de BAL nativas de Queso Adobera.....	55
<b>Tabla 10.</b> Caracterización de BAL nativas de Tejuino.....	56
<b>Tabla 11.</b> Caracterización de BAL nativas de Pulque.....	56
<b>Tabla 12.</b> Identificación de BAL nativas de Queso Adobera.....	57
<b>Tabla 13.</b> Identificación de BAL nativas de Tejuino.....	58
<b>Tabla 14.</b> Identificación de BAL nativas de Pulque.....	59
<b>Tabla 15.</b> Capacidad biotransformadora de LA en CLA de las BAL nativas, de Queso Adobera en MRS.....	60
<b>Tabla 16.</b> Capacidad biotransformadora de LA en CLA de las BAL nativas, de Tejuino en MRS.....	62
<b>Tabla 17.</b> Capacidad biotransformadora de LA en CLA de las BAL nativas, de Pulque en MRS.....	64
<b>Tabla 18.</b> Crecimiento de BAL (Controles).....	67
<b>Tabla 19.</b> Crecimiento de BAL nativas de Queso Adobera.....	67
<b>Tabla 20.</b> Crecimiento de BAL nativas de Tejuino.....	68
<b>Tabla 21.</b> Crecimiento de BAL nativas de Pulque.....	68
<b>Tabla 22.</b> Biotransformación de LA en CLA en la matriz Cuajada.....	70
<b>Tabla 23.</b> Crecimiento de BAL en matriz de Queso Adobera.....	71
<b>Tabla 24.</b> Composición fisicoquímica de matriz de Queso Adobera (Cuajada).....	72
<b>Tabla 25.</b> Capacidad de Biotransformación de LA en CLA en la matriz de Tejuino.....	73
<b>Tabla 26.</b> Crecimiento de BAL nativas de Tejuino en matriz (Tejuino sin fermentar).....	73

<b>Tabla 27.</b> Composición fisicoquímica de matriz de Tejuino.....	74
<b>Tabla 28.</b> Biotransformación de LA en CLA en la matriz de Pulque (Aguamiel).....	75
<b>Tabla 29.</b> Crecimiento de BAL nativas de pulque en matriz (Aguamiel).....	75
<b>Tabla 30.</b> Composición fisicoquímica de matriz de Pulque (Aguamiel).....	76

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Ácido linoleico ( <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12 C18: 2).....	14
<b>Figura 2.</b> Figura 2. <b>1)</b> Estructura del ácido linoleico; <b>2)</b> Estructura del ácido ruménico (CLA <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11); <b>3)</b> Estructura del ácido CLA <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12.....	15
<b>Figura.3</b> Queso adobera.....	21
<b>Figura 4.</b> Tejuino.....	22
<b>Figura 5.</b> Elaboración de Pulque (Escalante <i>et al.</i> 2016).....	24
<b>Figura 6.</b> Diagrama general de la metodología.....	31
<b>Figura 7.</b> Muestras de Pulque para medirle pH.....	32
<b>Figura 8.</b> Muestras de Queso Adobera, medición de Ácidez.....	33
<b>Figura 9.</b> Muestras de Queso Adobera, medición de color.....	33
<b>Figura10.</b> Muestras de Tejuino, medición de °Brix.....	34
<b>Figura11.</b> Termobalanza medición de % de Humedad.....	34
<b>Figura 12.</b> Medición de actividad de agua (aW).....	34
<b>Figura13.</b> Extracción de grasa en Soxhlet.....	35
<b>Figura14.</b> Extracción de grasa en Tejuino y Pulque.....	36
<b>Figura 15.</b> Diagrama de la técnica de metilación.....	37
<b>Figura 16.</b> Diagrama de aislamiento de BAL de productos artesanales.....	38
<b>Figura 17.</b> Características morfológicas.....	39
<b>Figura 18.</b> Método de identificación de BAL.....	40
<b>Figura 19.</b> Identificación de BAL con capacidad de biotransformación de LA en CLA en medio MRS.....	41
<b>Figura 20.</b> Diagrama de elaboración de Queso tipo Adobera.....	43
<b>Figura21.</b> Diagrama de elaboración de Tejuino.....	45
<b>Figura 22.</b> Diagrama de elaboración de Pulque.....	47
<b>Figura 23.</b> Cromatograma de perfil lipídico de Queso Adobera.....	52
<b>Figura 24.</b> Cromatograma de perfil lipídico de Tejuino.....	52
<b>Figura 25.</b> Biotransformación de las BAL nativas de Queso Adobera en medio MRS.....	61
<b>Figura 26.</b> Biotransformación de las BAL nativas de Tejuino en medio MRS.....	63
<b>Figura 27.</b> Biotransformación de las BAL nativas de Pulque en medio MRS.....	65

<b>Figura 28.</b> PH de biotransformación de BAL de tres productos en medio MRS.....	66
<b>Figura 29.</b> °Brix de biotransformación de BAL de tres productos en medio MRS.....	66
<b>Figura 30.</b> Queso tipo Adobera fermentado por <i>L. plantarum</i> .....	71
<b>Figura 31.</b> Queso tipo Adobera fermentado por <i>L. fermentum</i> .....	72



## Abreviaturas

**AL.** Ácido Linoleico (Linoleic acid).

**aW.** Actividad de agua.

**BAL.** Bacterias Ácido Lácticas.

**BF<sub>3</sub>.** Trifluoruro de boro.

**CLA.** Ácido Linoleico Conjugado (Conjugated Linoleic acid).

**g.** Gramos.

**GC.** Cromatografía de gases (Gas chromatography).

**h.** Horas.

**H<sub>2</sub>O-Pept.** Agua Peptonada

**Log.** Logaritmo.

***L. fermentum.*** *Lactobacillus fermentum.*

***L. plantarum.*** *Lactobacillus plantarum.*

***L. pantheris.*** *Lactobacillus pantheris.*

***L. brevis.*** *Lactobacillus brevis.*

**mg.** Miligramos.

**min.** Minutos.

**mL.** Mililitros.

**MRS.** Medio de cultivo (Man, Rogosa y Sharpe).

**NaCl.** Cloruro de sodio.

**ppm.** Partes por millón.

**seg.** Segundos.

**UFC.** Unidades Formadoras de Colonias.

**μL.** Microlitro.

**°C.** Grados Celsius (centígrados).

# 1. Introducción

---

El ácido linoleico conjugado (CLA por sus siglas en inglés Conjugated linoleic acid) representa una serie de isómeros posicionales y geométricos del ácido linoleico (LA por sus siglas en inglés Linoleic Acid), que contienen un sistema de dos dobles enlaces, donde cada uno de los dobles enlaces pueden estar en configuración *cis* o *trans*, y en diferentes posiciones a lo largo de la cadena de 18 carbonos (Figura 1), dando lugar a 28 posibles isómeros. La importancia del CLA deriva de sus efectos benéficos, que incluyen anti-cancerígeno, anti-diabético, anti-inflamatorio, anti-obesidad y anti-hipertensivo, los cuales han sido confirmados en estudios *in vivo* e *in vitro*, considerando al CLA como un compuesto bioactivo. La principal fuente natural de alimentos que contienen CLA en la dieta humana son los productos cárnicos, grasos y lácteos derivados de los rumiantes. Los ácidos grasos que constituyen el CLA se producen naturalmente en los animales rumiantes como intermediarios de la biohidrogenación del LA producida por la bacteria *Butyrivibrio fibrisolvens*, en el rumen de estos animales y que finalmente lleva a la generación de una mezcla de ácidos grasos monoinsaturados y saturados. El CLA se obtiene también en forma sintética a través de la hidrogenación controlada del aceite de soja, maíz o cártamo. Uno de los isómeros más abundantes es el isómero *cis* -9, *trans* -11 (también denominado ácido ruménico) que puede representar hasta el 80% del total de CLA que se ha encontrado en algunos alimentos otro isómero es *trans* -10, *cis* -12 (t10, c12 CLA), se encuentran en cantidades más pequeñas que el mencionado anteriormente pero su concentración es significativa en relación al resto de los isómeros encontrados, (Park y Pariza, 2007; Badinni *et al.*, 2009; Churruca *et al.*, 2009; Andrade *et al.*, 2012; Sosa *et al.*, 2014; Leon *et al.*, 2014; Bo Yang *et al.*, 2015).

El cambio de alimentación en los animales rumiantes durante los últimos años ha llevado a la disminución de producción de CLA en sus productos y con el aumento del interés en los efectos fisiológicos positivos sobre la salud humana por el CLA, se están buscando fuentes alternativas naturales para poder producir el CLA. En investigaciones recientes, una serie de bacterias de calidad alimentaria (aisladas de productos fermentados como leches, quesos, yogurts, y otros productos), han sido identificadas como productoras de CLA, como es el caso de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Propionibacterium* entre otras (Coakley *et al.*, 2003; OgaWa *et al.*, 2005; Hennessy *et al.*, 2009; Gorissen *et al.*, 2012).

## **2. Antecedentes**

---

## 2.1 Ácido linoleico

El ácido linoleico (LA) es un ácido poliinsaturado de 18 carbonos con dos dobles enlaces *cis* en la posición 9 y 12 (*cis*-9, *cis*-12 C18: 2) Figura 1, a este ácido también se le conoce como ácido octadecadienoico por el número de carbonos en su estructura química, pertenece al grupo de los omega-6 ya que un doble enlace se encuentra al contar desde el carbono omega, es decir a partir del grupo metilo (-CH<sub>3</sub>), como se muestra en la Figura 2 (Ronayne., 2000; Coronado *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2011; Kong *et al.*, 2014).

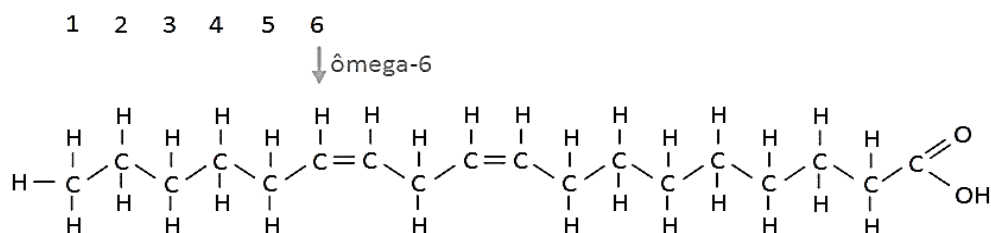


Figura 1.- Ácido linoleico (*cis*-9, *cis*-12 C18: 2).

## 2.2 Ácido linoleico conjugado

El ácido linoleico conjugado (CLA), fue descubierto accidentalmente por Pariza *et al.* 1995, quienes investigaban las propiedades cancerígenas de productos generados en la carne asada este estudio pionero permitió aislar los diferentes isómeros del CLA e identificarlos como el componente con propiedades anticancerígenas.

El CLA no es un sólo producto, se define como una mezcla de isómeros, derivados del LA (C18:2, *cis*-9, *cis*-12, omega-6), donde el término “conjugado” se utiliza para describir un grupo de isómeros posicionales y geométricos cuyos dobles enlaces no están separados por un grupo metilénico. Los lípidos funcionales tales como CLA en especial sus dos principales isómeros; *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12 (Figura 2), han atraído considerable atención desde la demostración de su potencial para reducir la masa corporal y algunas propiedades. En los Estados Unidos de América el CLA fue aprobado como GRAS (generalmente reconocido como seguro) en 2008 (Kim *et al.* 2016).

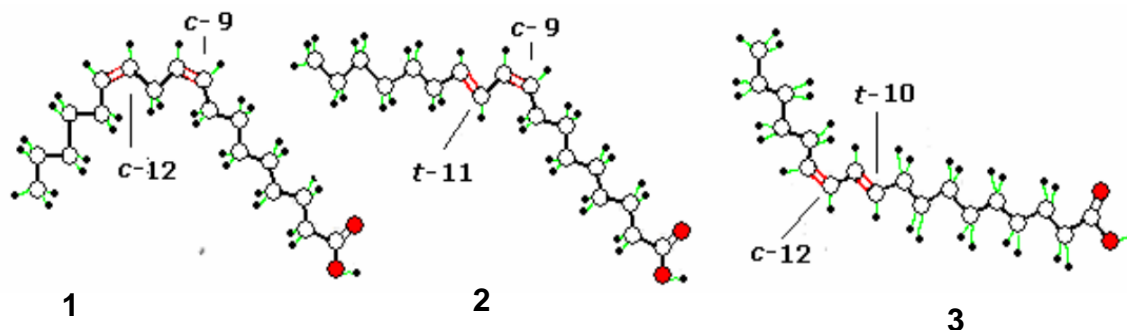


Figura 2. 1) Estructura del ácido linoleico; 2) Estructura del ácido ruménico (CLA *cis*-9, *trans*-11); 3) Estructura del ácido CLA *trans*-10, *cis*-12.

Los estudios llevados a cabo en animales principalmente en ratones, ratas, cerdos y hámsters, obesos o alimentados con una dieta alta en grasa han demostrado que el consumo de CLA reduce los lípidos del plasma, el peso corporal y la adiposidad. Los resultados de los estudios en humanos son incompatibles ya que los resultados son variados, en un análisis de 18 estudios se concluyó que la suplementación con CLA disminuyó la masa de grasa corporal en los hombres y las mujeres, mientras que otros estudios no han encontrado ningún efecto de CLA en la composición corporal o el perfil de lípidos. Actualmente, hay poca información sobre el efecto de los isómeros de CLA en la homeostasis de la glucosa. Algunos estudios han encontrado una mejora de la sensibilidad a la insulina, mientras que otros no han encontrado cambios positivos en la glucosa en ayunas o los niveles de insulina (Malinska *et al.* 2015).

En general, los efectos de CLA en los seres humanos han sido menores que los observados en los animales. Una posible explicación para esto es que las concentraciones de las dosis de CLA usadas en los estudios con ratones fueron más altas en comparación con las usadas en estudios con seres humanos. Los productos de CLA que actualmente se encuentran en el mercado contienen una variedad de mezclas de isómeros de CLA o los dos principales isómeros (*cis*-9, *trans*-11-CLA y *trans*-10, *cis*-12-CLA), en una relación de 50:50 (Bo Yang *et al.* 2015).

Hoy en día, dado el interés considerable en los isómeros *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12 debido a los efectos positivos propuestos que tienen en la salud humana, se han investigado otras fuentes para obtener los isómeros de CLA. Se ha reportado que las bacterias ácido lácticas (BAL), muestran capacidad de sintetizar LA de manera *in vitro* para producir CLA, ya sea en medios sintéticos o de leche, sin embargo, la capacidad de producir CLA puede

variar de especie a especie (OgaWa *et al.* 2005). Hay pocos estudios en alimentos, en un estudio *in vitro* orientado a la mejora de las cantidades de isómeros de CLA en un sistema cárnico usando un cultivo iniciador *L. sakei* LMG 13558, la fermentación se realizó con pH de 5,5 a una temperatura de 25 °C, sin embargo en este estudio no pudo producir ningún isómero de CLA, los investigadores afirmaron que no se incrementó debido a los factores limitantes tales como las condiciones de temperatura y pH que prevalece para la conversión de LA en CLA (Gorissen, *et al.* 2011).

En otra investigación se estudiaron dos bacterias *L. plantarum* AB20-961 y *L. plantarum* AA1-2 en la fabricación de sucuk, un embutido seco fermentado que se produce principalmente a partir de carne molida de res o de búfalo de agua, se compone de agentes de curado (nitrito o nitrato), con diversas especias incluyendo el comino, ajo, sal, pimienta negra y roja, es un producto tradicional turco. En este estudio se concluyó que *L. plantarum* AB20-961 se puede utilizar para mejorar el contenido de CLA en las primeras etapas de la fermentación, sin efectos adversos sobre las características de calidad del producto final por otro lado, *L. plantarum* AA1-2 no fue capaz de producir CLA en la fermentación de sucuk. Las condiciones de fabricación tales como la temperatura y el pH fueron muy probablemente los factores limitantes para la producción de CLA en sucuk, por lo tanto, se necesita más investigación para determinar las condiciones óptimas de fabricación para lograr aumento deseado de los niveles de CLA (Özer *et al.* 2016).

### **2.3 Bacterias ácido lácticas biotransformadoras de AL en CLA**

En diversas investigaciones se han reportado algunos microorganismos con capacidad de biotransformar el LA en CLA generando altas proporciones de los isómeros biológicamente más activos generando (el *cis*-9, *trans*-11 CLA y el *trans*-10, *cis*-12 CLA) dentro de los microorganismos con esta capacidad se encuentran las Bacterias Ácido Lácticas (BAL) (*Propionibacterium*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Propionibacterium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, entre otras), (Lin *et al.* 1999; Rainio *et al.* 2001; OgaWa *et al.* 2001; Kishino *et al.* 2002; Lee *et al.* 2003; Coakley *et al.* 2003; Ando *et al.* 2003; Ando *et al.* 2004; Song *et al.* 2005; Wang *et al.* 2007; Nieuwenhove *et al.* 2007; Lee *et al.* 2007; Roman-Nunez *et al.* 2007; Puniya *et al.* 2008; Zeng *et al.* 2009; Hernandez *et al.* 2009; Gorissen *et al.*

2010; Hou *et al.* 2011; Gorissen *et al.* 2011; Lui *et al.* 2011; Rodríguez *et al.* 2011; Zhao *et al.* 2011; Henessy *et al.* 2012) mostrados en Tabla 1.

Tabla 1. Producción de CLA por BAL en medio fortificado con una fuente de LA.

<b>Genero</b>	<b>Cantidad de CLA (mg-mL/L)</b>	<b>Referencias</b>
<i>Lactobacillus</i>	78-105	Lin <i>et al.</i> (1999)
<i>Propionibacterium</i>	1600	Rainio <i>et al.</i> (2001)
<i>Lactobacillus</i>	4900	OgaWa <i>et al.</i> (2001)
<i>Enterococcus, Pediococcus, Propionibacterium, Lactobacillus</i>	70-3410	Kishino <i>et al.</i> (2002)
<i>Lactobacillus</i>	300	Lee <i>et al.</i> (2003)
<i>Bifidobacterium</i>	1-242.1	Coakley <i>et al.</i> (2003)
<i>Lactobacillus, Streptococcus, Pediococcus, Leuconostoc</i>	105.7-1135	Ando <i>et al.</i> (2003)
<i>Lactobacillus</i>	2700	Ando <i>et al.</i> (2004)
<i>Bifidobacterium</i>	577	Song <i>et al.</i> (2005)
<i>Propionibacterium</i>	78.8	Wang <i>et al.</i> (2007)
<i>Streptococcus, Lactobacillus, Bifidobacterium</i>	17-35.9	Nieuwenhove <i>et al.</i> (2007)
<i>Lactobacillus</i>		Lee <i>et al.</i> (2007)
<i>Lactobacillus</i>	17.4	Roman-Nunez <i>et al.</i> (2007)
<i>Lactobacillus</i>	8-11 mg/g(Fat)	Puniya <i>et al.</i> (2008)
<i>Lactobacillus</i>	623	Zeng <i>et al.</i> (2009)
<i>Lactobacillus</i>	108	Hernandez <i>et al.</i> (2009)
<i>Bifidobacterium</i>	40.7-53.5	Gorissen <i>et al.</i> (2010)
<i>Lactobacillus</i>	57	Hou <i>et al.</i> (2011)
<i>Lactobacillus</i>	8-57	Gorissen <i>et al.</i> (2011)
<i>Lactobacillus</i>	141.8	Lui <i>et al.</i> (2011)
<i>Lactococcus, Bifidobacterium, Lactobacillus</i>	3.89-8.57	Rodríguez <i>et al.</i> (2011)
<i>Lactobacillus</i>	276	Zhao <i>et al.</i> (2011).
<i>Lactobacillus, Bifidobacterium, Streptococcus, Propionibacterium</i>	8-300	Henessy <i>et al.</i> (2012)

Las BAL son un grupo de bacterias fisiológicamente uniforme, Gram-positivas, anaerobias facultativas, catalasa negativa y no formadoras de esporas, su crecimiento es de 7 a 9



logaritmos de UFC/mL. Las funciones de las BAL en la tecnología de productos alimenticios son: Fermentación para la producción de sabor ácido, inhibición de microorganismos patógenos o deterioradores, modifican propiedades funcionales (sabor y textura), se han utilizado como iniciadores protectores en productos fermentados, también han sido utilizadas como probióticos. Según la fermentación de la lactosa las BAL se clasifican en Homofermentativas (producen solo ácido láctico) y Heterofermentativas (producen ácido láctico y otras sustancias) y con respecto a la temperatura de crecimiento en mesófilas y termófilas; las mesófilas crecen a una temperatura ideal de incubación de 20-25°C y las termófilas a una temperatura de 40-45°C (Hugensholtz 2008; Parra 2010).

Las BAL pertenecen al *Phylum firmicutes* que comprende alrededor de 20 géneros; *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oneococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* y *Weisella* son los principales miembros de las BAL, siendo *Lactobacillus* el más grande de estos géneros (Parra 2010). Desempeñan un papel importante en los procesos de fermentación; ellas son muy utilizadas en la industria alimentaria, no solamente por su habilidad por acidificar, sino también su implicación en la textura, sabor, olor y desarrollo de aroma de alimentos fermentados (Savadogo *et al.* 2006; Hugensholtz 2008; Parra 2010).

## **2.4 Alimentos fermentados artesanales**

La fermentación es una tecnología de conservación de los alimentos muy antigua, la cual se encuentra presente en prácticamente todas las culturas del mundo (Steinkraus 2002).

En la actualidad, alimentos fermentados –como el vino, la cerveza, el pan y el yogurt– se producen de manera industrial y se encuentran al alcance de muchas personas en el mundo. Existen otros alimentos fermentados que se producen en menor escala, de forma artesanal, semi-comercial, o bien sólo se consumen por ciertos grupos sociales o etnias. Éstos son conocidos como “alimentos fermentados artesanales” (Wacher-Rodarte 2002)

Los alimentos fermentados artesanales se han consumido en México desde épocas prehispánicas, lo que actualmente sobrevive, es el testimonio de un conocimiento antiguo y recreado en las cocinas indígenas de nuestro país. En los alimentos fermentados artesanales, los microorganismos endógenos de la materia prima y del ambiente

juegan un papel muy importante en el desarrollo de las características sensoriales y fisiológicas. Los alimentos fermentados son todos aquellos cuyo procesamiento involucra el crecimiento y la actividad de microorganismos. La fermentación de alimentos consiste en la modificación de la estructura de las materias primas como frutas, cereales, vegetales o carnes, entre otras, mediante la acción de diversos microorganismos, que a través de reacciones metabólicas, principalmente de los carbohidratos de estos alimentos, permiten la formación de ácidos orgánicos como: acético, láctico, butírico, propiónico, algunos alcoholes como el etanol, así como algunos ácidos entre ellos el ácido láctico, además de la liberación de algunos aminoácidos. Estas reacciones traen como consecuencia modificaciones relacionadas con el sabor, olor, textura y color del alimento (Vargas 1999; Escamilla y Escamilla 2007).

Como consecuencia del estudio de los alimentos fermentados, no sólo se han encontrado nutrientes como vitaminas, carbohidratos, grasas, etc. que fortalecen su importancia nutrimental en la dieta de las regiones de México en las que se consumen, sino que también se han descubierto microorganismos autóctonos con actividades interesantes desde el punto de vista científico y tecnológico. Un ejemplo en este sentido lo constituye la bacteria láctica *Leuconostoc citreum*, aislada del Pozol. Esta bacteria está comúnmente asociada a la producción de un polímero de glucosa denominado dextrana. Sin embargo, se encontró que esta cepa es especial en el sentido de que produce también fructanas, polímeros de fructosa que son consumidos por bacterias del intestino consideradas como “buenas” con gran importancia para desarrollar la microbiota intestinal (Olivares *et al.* 2002).

Otro ejemplo es *Agrobacterium azotophilum*, que produce sustancias antimicrobianas, es decir que eliminan microorganismos patógenos que pueden encontrarse en el alimento, como una especie de antibiótico. Tiene también una característica inusual, ya que es fijadora de nitrógeno y no se habían reportado microorganismos con esta característica en un alimento fermentado (Olivares *et al.* 2002).

Lo anterior muestra que las BAL aisladas de diferentes productos fermentados artesanales se han usado por sus diferentes propiedades, en estudios anteriores han presentado la capacidad de convertir AL en isómeros de CLA, durante su proceso de fermentación *in vitro* en medios de cultivo específicos o en leches bajas en grasa.

Los productos fermentados artesanales seleccionados para el desarrollo de este trabajo fueron dos productos artesanales producidos en el estado de Jalisco (Queso Adobera y Tejuino), además de un producto artesanal producido en el estado de Hidalgo (Pulque), los criterios de selección de estos productos fueron; la diversidad de las materias primas (maíz, leche y maguey), son productos producidos de forma artesanal y de consumo local en regiones del país.

## **2.5 Queso Adobera**

El queso se describe, como producto elaborado de la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras especies animales, con o sin adición de crema, obtenida de la coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas, ácidos orgánicos comestibles y con o sin tratamiento ulterior, por calentamiento, drenada, prensada o no, con o sin adición de fermentos de maduración, mohos especiales, sales fundentes e ingredientes comestibles opcionales, dando lugar a las diferentes variedades de quesos pudiendo por su proceso ser: fresco, madurado o procesado (NOM-243-SSA1-2010).

El queso Adobera al parecer tiene décadas de existencia, y posiblemente siglos, es un queso típico mexicano, que es elaborado y altamente apreciado no solamente en el estado de Jalisco (donde probablemente es oriundo) sino de otros estados del país como Guanajuato, Hidalgo y Zacatecas (Villegas 1993).

Éste queso muestra un color blanco o ligeramente amarillo está influenciado por la riqueza en grasa de la leche con que se elabora. Cuando está muy oreado o ligeramente añejado la pasta se torna muy friable (que se desmenuza muy fácilmente), cuando se elabora se presenta la chedarización (acidificación de masa).

Es un queso elaborado con leche cruda de vaca, fresco o ligeramente añejado, de pasta blanda, acidificado por la microflora natural de la leche y prensado ligeramente. Dado su pH bajó de alrededor de 5.2 se comporta como los quesos de pasta hilada (es elástico cuando se calienta), fundiéndose fácilmente al aplicarle calor Figura 3.

Se presenta en el mercado en prismas rectangulares (de ahí su nombre, "adobe" para construcción), en presentaciones de 250g, 500g y 1kg (Villegas 1993).



Figura.3 Queso adobera.

En este tipo de queso adobera para fundir se han encontrado diferentes géneros de BAL; *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Pediococcus* entre otras, las cuales en otras investigaciones se les ha encontrado actividad biotransformadora de LA a CLA (Pelayo., et al., 2012).

## 2.6 Tejuino

El Tejuino o tesgüino es una bebida alcohólica semejante a la cerveza, preparada a base de maíz germinado o de jugo de caña de maíz. Lo consumen grupos étnicos del norte y noroeste de México, como los yaquis y pinas de Sonora; los tarahumaras de Chihuahua; los Guarijíos de Chihuahua y Sonora; los Tepehuanos de Durango; los Huicholes de Jalisco y Nayarit y los Zapotecos de Oaxaca. La población mestiza de las regiones mencionadas bebe una modalidad de tesgüino de contenido alcohólico mucho más bajo llamado Tejuino (Ulloa *et al.* 1987; Wachter 1993).

El Tejuino es una bebida artesanal que se prepara mediante la fermentación del nixtamal de maíz. La preparación es a partir de granos de maíz germinado o nixtamalizado que muelen o mezclan con azúcar o piloncillo, y como inóculo añaden Tejuino “viejo” que es el Tejuino previamente elaborado. Se consume como una bebida refrescante y en ocasiones añaden sal, jugo de limón y nieve de limón. Durante la fermentación se desarrollan diversos microorganismos que le confieren a la bebida sabor, olor y consistencia característica Figura 4.



Figura 4. Tejuino

Se tiene poca información científica relacionada con esta bebida; Flores y colaboradores en 2009 estudiaron la microflora presente en el Tejuino, como resultados lograron aislar y caracterizar cepas importantes para la elaboración de Tejuino: *Lactobacillus acidophilus* y *Leuconostoc mesenteroides*.

## 2.7 Pulque

El Pulque es una bebida tradicional Mexicana que se obtiene por la fermentación de la savia azucarada conocida como aguamiel obtenida a partir de diferentes especies de maguey (*Agave atrovirens*, *Agave ferox*, *Agave mapisaga*, *Agave salmiana*) (Campos 2002; Escalante *et al.* 2004; Escamilla y Escamilla 2007; Lorenzo 2007; Colín *et al.* 2012; González *et al.* 2015).

Esta bebida es consumida por poblaciones indígenas y mestizas de muchas regiones del país, particularmente en las áreas de la meseta central, de la república mexicana. Se caracteriza por ser una bebida alcohólica (4 y 6% de alcohol) con un pH entre 3.5-4.2, blanca con olor fuerte y viscosa (Escalante *et al.* 2004; Colín *et al.* 2012).

La extracción del aguamiel y la elaboración del pulque se lleva a cabo tradicionalmente por el tlachiquero (persona que tiene un conocimiento de la biología y cuidado de la planta de maguey utilizados para la producción de pulque), el proceso inicia con la selección de las plantas maduras que tienen aproximadamente de 6 a 15 años de edad (Campos 2002; Peña *et al.* 2004; Lorenzo 2007; Ortiz *et al.* 2008).

El aguamiel es un líquido dulce éste puede ser ácido o ligeramente alcalino, incoloro y transparente. Posee un ligero olor herbáceo y contiene diversos minerales, además de ser rico en carbohidratos y proteínas. El contenido de sacarosa en el jugo de la planta adulta (penca o

piña), es apreciable y por tanto, se trata de un substrato que puede ser empleado como materia prima en la industria de la fermentación, para la obtención de proteína de levadura; vitaminas mediante microorganismos; dextranas para uso alimenticio o clínico; mieles y jarabes de fructosa además de producción de ácidos orgánicos mediante microorganismos; el aguamiel presenta un pH promedio cercano a la neutralidad (6.8), con un porcentaje de humedad elevado (86%) y una proporción de sólidos solubles de 10.85 °Brix. El contenido de proteína soluble es de 5.3%, la sacarosa es el azúcar que está presente en mayor proporción, aunque hay otros polisacáridos compuestos por glucosa y fructosa como los oligofruetosacáridos y polifruetosacáridos (Campos 2002; Peña *et al.* 2004; Lorenzo 2007; Ortiz *et al.* 2008).

En cuanto al proceso de fermentación este inicia en el maguey, donde se encuentran microorganismos autóctonos como levaduras, bacterias lácticas, bacterias productoras de etanol y bacterias productoras de exopolisacáridos. Estos microorganismos transforman de manera natural parte de los azúcares disponibles en aguamiel, sin embargo el proceso se acelera por la adición de un Inóculo iniciador llamado semilla (una porción de pulque previamente producido). La fermentación se realiza en depósitos generalmente de cuero de vaca, fibra de vidrio, barriles de plástico o de madera, ubicados ya sea en espacios cerrados conocidos como tinacal o en espacios abiertos específicos, el tiempo de fermentación puede durar de 12 a 48 hora a 25° C, cuidando que los recipientes no tenga ninguna sustancia que inhiba el crecimiento de los microorganismos como pueden ser: detergentes, perfumes, desinfectantes, entre otros (Campos 2002; Olivares *et al.* 2002 ; Escalante *et al.* 2004; Escamilla y Escamilla 2007; González *et al.* 2015; Torres *et al.* 2016).

El proceso tradicional de elaboración de Pulque consiste en cinco pasos comunes, como lo describe “Escalante y colaboradores en 2016”; el primer paso es la castración de la planta madura cortando el botón floral y hacer el agujero conocido como cajete; el segundo paso es raspado para promover la acumulación de aguamiel este proceso dura alrededor de 12 h. (D), el tercer paso es la extracción del aguamiel con un acocote (A), esta aguamiel se transfiere a un recipiente de plástico (B) , el cuarto paso es la preparación de la semilla (E), el quinto paso es la fermentación (F, H ,y G), como se describe en la Figura 5 (Escalante *et al.* 2016).



Figura 5. Elaboración de Pulque (Escalante *et al.* 2016).

Se ha encontrado en investigaciones previas que a partir del pulque se pueden recuperar diversos grupos microbianos clasificados como: *Bacillus*, *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. kéfir*, *L. acetotolerans*, *L. plantarum*, *L. brevis* y *L. collinoides*), *Streptococcus*, *Leuconostoc* entre otras (Escalante *et al.* 2004; González *et al.* 2015; Torres *et al.* 2016; Escalante *et al.* 2016).

**Planteamiento del problema**

---

**Justificación**

---

**Hipótesis**

---

**Objetivo general**

**\*Objetivos específicos**

---



### **3. Planteamiento del problema**

Se han realizado diferentes estudios sobre el CLA y sus isómeros, desde su origen hasta sus beneficios, donde se ha encontrado que existen diferentes microorganismos con capacidad de producir CLA a partir de una fuente de LA. Dentro de estos microorganismos se encuentran algunos géneros de BAL las cuales han sido capaces de llevar a cabo el proceso de transformación bajo condiciones específicas demostrando que no todas tienen la capacidad para llevar a cabo la biotransformación aunque sean del mismo género de bacterias.

Por lo que es importante saber si, las bacterias lácticas obtenidas a partir de productos fermentados artesanales como Queso Adobera, Tejuino y Pulque son capaces de biotransformar el LA en CLA.

#### **4. Justificación**

Diferentes estudios han demostrado que el CLA es importante para los seres humanos debido a sus beneficios anticancerígenos, antihipertensivos y para el control de peso. En la actualidad las fuentes de obtención de CLA no son suficientes, de la misma manera que la elaboración por métodos químicos que no son aceptables para el consumo humano. Es por esta razón que es necesario identificar fuentes alternativas seguras de obtención de ácidos linoleicos conjugados. Una opción viable son las BAL nativas de productos fermentados artesanales, las cuales se ha demostrado son seguras para el consumo. El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar la presencia de BAL con capacidad de biotransformación de CLA a partir de LA, en un medio de cultivo específico y en productos artesanales con diferente composición química debida a la naturaleza de sus materias primas (leche, maíz y maguey (agave)). Así mismo se pretende que a través del presente trabajo se pueda descubrir la presencia de BAL con capacidad de producción de CLA y de este modo demostrar un valor agregado para estos productos artesanales.

## 5. Hipótesis

Si las bacterias lácticas encontradas en los productos fermentados artesanales (Queso Adobera, Tejuino y Pulque), se cultivan de manera independiente en medios específicos, enriquecidos con LA y bajo condiciones controladas, se podrán seleccionar aquellas que tengan la capacidad de producir CLA, y si las bacterias seleccionadas, que tienen la capacidad de producir CLA se cultivan en Tejuino y Pulque previamente esterilizados, en Queso Adobera previamente pasteurizado y enriquecidos todos con LA, se comprobaría si es posible o no, producir mediante estas bacterias en este tipo de alimentos CLA, para darles un valor agregado a estos productos artesanales de gran importancia económica y cultural para las regiones en las que se producen.

## **6. Objetivo general**

Identificar la capacidad biotransformadora, de bacterias ácido lácticas nativas de tres productos artesanales (Queso Adobera, Tejuino y Pulque) para convertir ácido linoleico en ácido linoleico conjugado.

### **6.1. Objetivos específicos**

1. Aislar bacterias lácticas provenientes de tres productos fermentados artesanales (Queso Adobera, Tejuino y Pulque), además de la caracterizar cada uno de los productos de forma microbiológica, fisicoquímica y el perfil lipídico.
2. Identificar las cepas nativas aisladas de los productos fermentados artesanales (Queso Adobera, Tejuino y Pulque).
3. Identificar y evaluar de manera *in vitro* la capacidad biotransformadora de ácido linoleico en ácido linoleico conjugado de las bacterias aisladas de los tres productos artesanales (Queso Adobera, Tejuino y Pulque), en medio de cultivo específico.
4. Evaluar la capacidad de las cepas seleccionadas de biotransformar el ácido linoleico en ácido linoleico conjugado en cada una de las matrices de los productos de origen (Queso Adobera, Tejuino y Pulque).

## **7. Metodología**

---

## 7.1 Metodología general

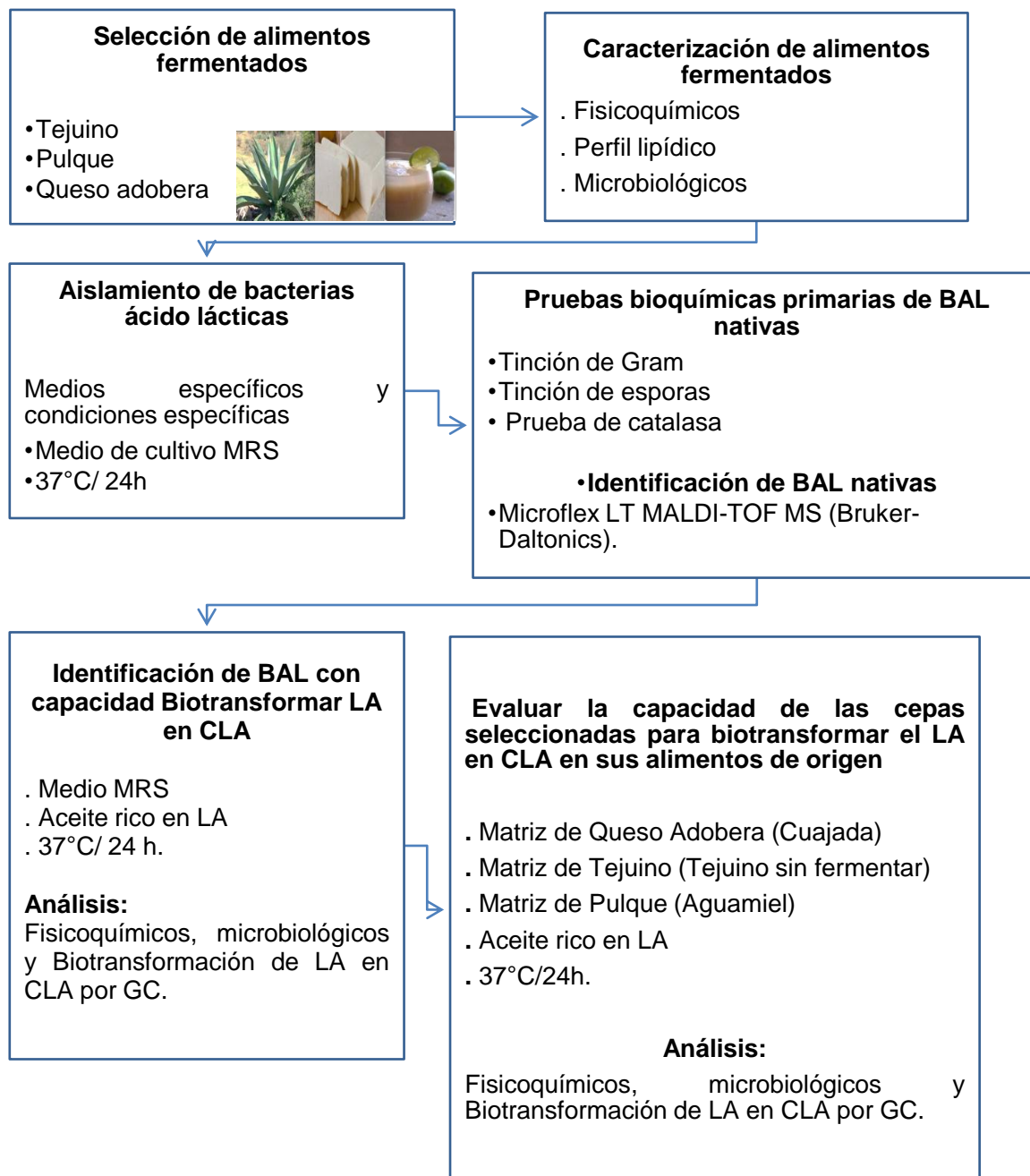


Figura 6. Diagrama general de la metodología.

## 7.2 Selección de productos fermentados artesanales

Se seleccionaron productos fermentados de origen artesanal, de la Zona metropolitana de Guadalajara Jalisco (Queso Adobera y Tejuino), otro producto que se seleccionó fue de la Zona del Valle del Mezquital del estado de Hidalgo (Pulque), todos los productos fueron seleccionados dada la información general en estudios, donde señalan la presencia de algunos géneros de BAL, las cuales han demostrado la capacidad de biotransformar LA en CLA.

El aceite rico en ácido linoleico fue donado por la empresa SESAJAL S.A de C.V. Guadalajara, Jalisco, México.

## 7.3 Caracterización fisicoquímica de Queso adobera, Tejuino y Pulque

Se caracterizaron los tres productos artesanales mediante análisis de pH, acidez y color. Al Tejuino y el Pulque se les midieron; °Brix. Al Queso Adobera se le midió % de Humedad y aW (Actividad de agua).

El pH fue medido mediante un potenciómetro (Thermo Scientific Orion Star A111 pH Benchtop Meter Kit), con base en la medición electrométrica de la actividad de los iones hidrógeno presentes en una muestra Figura 7 (NMX-F-317-S-1978).



Figura 7. Muestras de Pulque para medirle pH.

La acidez se determinó por la técnica de “acidez titulable” usando fenolftaleína como indicador. El método consiste en llenar una bureta con solución de hidróxido de sodio 0.1 N valorada. Se toma la lectura de la cantidad de solución en la bureta. La muestra en solución se introduce en un matraz Erlenmeyer, se adicionan 3 gotas de fenolftaleína al 1% como indicador. Titulación: Se adiciona gota por gota la solución de hidróxido de sodio, al mismo tiempo que se gira lentamente el matraz Erlenmeyer con muestra. Cuando aparece el color

rosa se cierra la llave de la bureta y se sigue agitando el frasco durante 15 segundos hasta que el color sea permanente. En caso contrario, se adiciona cada vez una gota extra de hidróxido de sodio. Si el color permanece, se da por terminada la titulación. Se toma la lectura en la bureta y se calcula la cantidad de hidróxido de sodio usada para neutralizar la acidez de la muestra, como se observa en la Figura 8 (NMX-F-102-NORMEX-2010).



Figura 8. Muestras de Queso Adobera, medición de Acidez.

El color fue medido en un espectrofotómetro (Espectrofotómetro / Colorímetro CM-5 Marca Konica Minolta), se usó una placa Petri para colocar las muestras, se normalizó con una calibración automática, los resultados son en valores ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), cada muestra fue leída por triplicado (Figura 9).

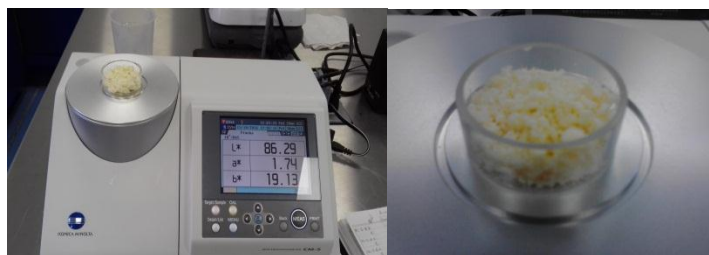


Figura 9. Muestras de Queso Adobera, medición de color.

Los °Brix fueron medidos mediante un refractómetro. Antes de empezar con la medición las muestras fueron atemperadas a 290k (20°C), como lo indica en la NMX-F-103-1982. Alimentos, Frutas y derivados. Determinación de grados Brix, la medición de cada muestra se realizó por triplicado Figura 10 (NMX-F-103-1982).





Figura10. Muestras de Tejuino, medición de °Brix.

El % de humedad fue calculado como la pérdida de peso al secado de la muestra, usando un instrumento de analizador de humedad (Termobalanza marca AND MX-50/MF-50) (Figura 11), cada una de las muestras se midió por triplicado (NMX-F-428-1982).



Figura11. Termobalanza medición de % de Humedad.

La actividad de agua ( $a_w$ ) se midió mediante un higrómetro de punto de rocío de marca AQUA-LAB serie 3 a 25°C Figura12, cada muestra fue medida por triplicado. (AOAC 978.18).



Figura 12. Medición de actividad de agua ( $a_w$ ).

## 7.4 Extracción de lípidos de queso Adobera

La extracción de la grasa del queso Adobera se llevó a cabo mediante la extracción sólido-líquido con disolvente Hexano, mediante el método de “Soxhlet” (Figura13), aprobado por la Norma Oficial Mexicana “Determinación de Extracto Etéreo (Método Soxhlet) en Alimentos” (NOM-F-89-S-1978).



Figura13. Extracción de grasa en Soxhlet.

## 7.5 La extracción de lípidos para el Tejuino y el Pulque.

Fue realizada por extracción Líquido-Líquido; 10 mL de productos se centrifugaron a 7000rpm durante 5 min a 4°C en una centrifuga Universalzentrifugen Heraeus™ Multifuge™ X3 Serie (Thermo Fisher Scientific), posteriormente a 3 mL del sobrenadante se adicionaron 6 mL de isopropanol y se agitó por 1 minuto en vortex. Posteriormente se agregaron 5 mL de hexano, se agitó por 1 min en vortex y se centrifugó a 2000 rpm durante 5 minutos a 4°C; se extrajo el sobrenadante y finalmente se retiró el solvente en Speed Vacuum, MiniVac Evaporators, LABOGENE, para ser metilado, basándonos en la técnica descrita por Rodríguez y colaboradores en 2011 (Figura 14).



Figura14. Extracción de grasa en Tejuino y Pulque.

## **7.6 Determinación del perfil lipídico de Queso Adobera y Tejuino por cromatografía de gases.**

La determinación de CLA se efectuó a partir de la conversión de metil ésteres de ácidos grasos (FAMES), mediante el uso de  $\text{BF}_3$  y subsiguiente separación cromatográfica.

## **7.7 Conversión a metil ésteres de ácidos grasos (FAMES)**

A 150mg de la grasa obtenida se le adiciona 4mL de hidróxido de sodio en metanol 0.6N, se deja en baño maría a temperatura de  $80^\circ\text{C}$  por 10 minutos, posteriormente sin quitar del baño de agua se le agregan 5 mL de trifloruro de boro en metanol ( $\text{BF}_3$ ) (14-16%), se deja en reposo por 2 minutos y posteriormente se le adiciona 3mL de heptano, se deja en reposo un minuto se retira del baño a  $80^\circ\text{C}$  y se le agregan 20mL de una solución de Cloruro de Sodio saturada, se le da un choque térmico a corriente de agua y se lleva la fase orgánica a superficie adicionándole una solución de cloruro de sodio saturado y finalmente la fase orgánica (grasa metilada), se coloca en un vial Figura 15.

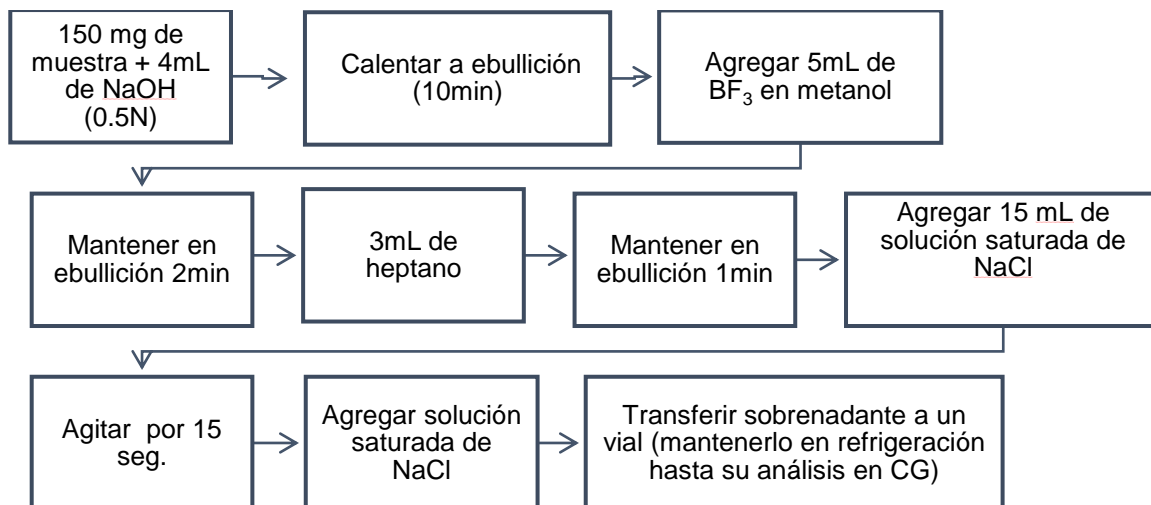


Figura 15. Diagrama de la técnica de metilación.

## 7.8 Análisis de perfil lipídico mediante cromatografía de gases

Los lípidos fueron determinados por cromatografía de gases con detector de masas (sistema Agilent technologies 7890B & 5977A Serie GC/MSD). La separación cromatográfica se logró con una columna HP-23 *cis/trans* 60m x 0.25mm ID x 0.25µm, inyectando 1µL en un flujo de 1.3 mL/min de Helio (He). Las condiciones de temperatura fueron las siguientes: inyector 250°C, detector 260°C, con un programa de temperatura de 40°C, 5 min; gradiente 25°C/min hasta 180°C durante 30min; gradiente 5°C hasta 250°C durante 5 min. La ionización se efectuó a 70eV por EI (Impacto eléctrico). La identificación de ácidos grasos fue obtenida a partir de la comparación de espectros de los picos de la muestra con los de la biblioteca NIST14 (NMX-F-017-SCFI-2011).

## 7.9 Calidad microbiológica de productos artesanales

A los productos artesanales de donde se aislaron las bacterias lácticas del presente estudio se determinó la calidad microbiológica. Esta determinación no se realizó con carácter preventivo sino con el objetivo de valorar la carga microbiana del alimento de los tres productos (Queso Adobera, Tejuino y Puque). Se determinó la carga microbiana de Coliformes totales, hongos, levaduras, bacterias aerobias meso filas y bacterias lácticas, la cuenta fue en placa con una dilución primaria con el objetivo de distribuir lo más uniformemente posible los microorganismos contenidos en la muestra destinada para el análisis. Posteriormente se preparan diluciones decimales adicionales para reducir el número de microorganismos por

unidad de volumen y permitir la adecuada distribución y conteo de microorganismos en placa después de la incubación (NOM-110-SSA1-1994).

### 7.10 Aislamiento de bacterias lácticas de productos fermentados artesanales

Esta metodología se tomó de acuerdo a lo propuesto en estudios anteriores sobre BAL con algunas modificaciones, de los productos fermentados artesanales (Queso Adobera, Tejuino y Pulque), se tomaron muestras de cada uno de los productos en condiciones estériles para sembrarse en medio de cultivo específico para bacterias lácticas De Man-Rogosa-Sharpe (MRS), las muestras inoculadas se incubaron a  $37\pm 2^{\circ}\text{C}$  por 24h, posteriormente se realizaron resiembras sucesivas hasta obtener colonias típicas de este tipo de bacterias (Figura 16).

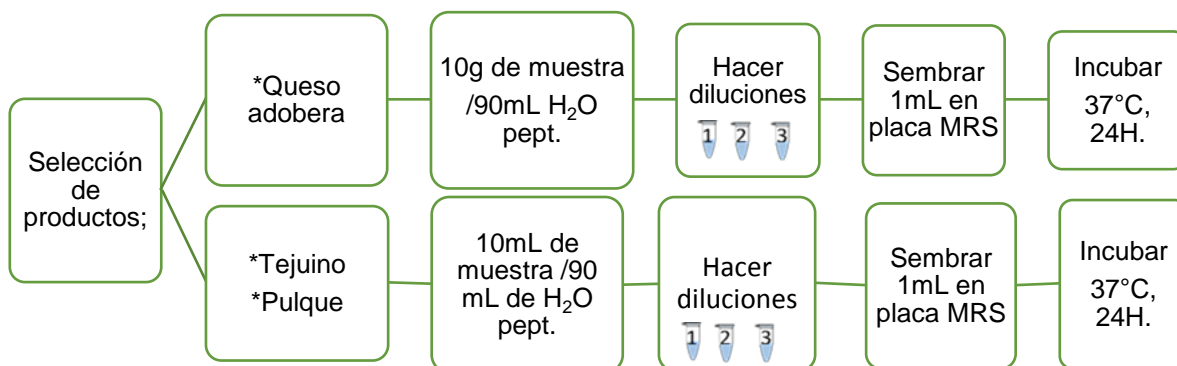


Figura 16. Diagrama de aislamiento de BAL de productos artesanales.

El aislamiento de cepas se realizó por el método de rayado o estriado como mejor es conocido, que consiste en inocular sobre un extremo de la placa con el asa y extendiendo formando estrías sobre la superficie en varios sentidos, cada célula aislada se multiplicó formando una colonia independiente, cada colonia formó un cultivo puro y de esta manera se fueron separando las cepas por características morfológicas (color, forma, borde y tamaño) como se observa en la Figura 17.

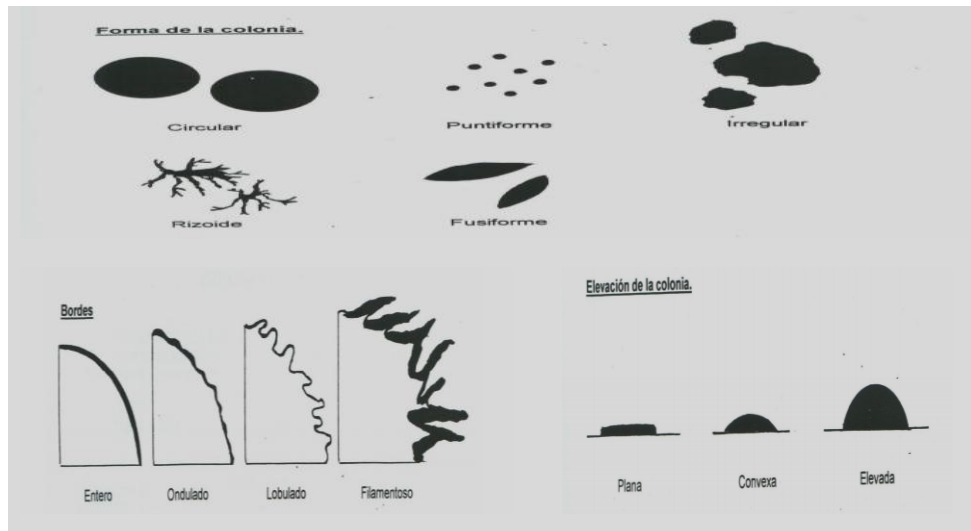


Figura 17. Características morfológicas.

## 7.11 Pruebas bioquímicas primarias de BAL nativas

**Tinción de Gram:** La técnica de tinción se llevó a cabo en un porta objeto limpio se le agregó una gota de agua destilada, posteriormente se tomó una parte de una colonia de la muestra a analizar con la ayuda de un asa de siembra y se mezcló con la gota. Se dejó secar y se fijó a la llama, después se cubrió con solución cristal violeta durante un minuto, se desechó el colorante lavando ligeramente con agua destilada, posteriormente se aplicó la solución de yodo durante 1 minuto, se desecha el colorante lavando ligeramente con agua destilada, con el portaobjeto inclinado se le agrega la solución de alcohol-cetona y se lavó. Por último se cubrió con safranina durante 10 ó 20 minutos, se desecha el colorante lavándolo con agua destilada y se dejó secar, posteriormente colocó una gota de aceite de inmersión y observó al microscopio.

**Tinción de esporas:** El método se basó en preparar los frotis bacterianos, los cuales se tiñeron con verde malaquita, con ayuda de unas pinzas se colocó el portaobjetos con la muestra encima de la llama del mechero de forma que el colorante humee durante 5 min. (Evitando que la muestra hierva y se pierda (se añade más colorante si éste se evapora, es importante que la muestra no se seque). Se lavó con abundante agua para retirar el exceso de colorante, se tiñó con safranina por 1 min. Por último se lavó con abundante agua el exceso de colorante. Posteriormente se coloca una gota de aceite de inmersión y observar al microscopio.

**Prueba de catalasa:** La metodología empleada para la prueba de catalasa se llevó a cabo tomando una alícuota de una colonia la cual se coloca sobre un portaobjetos se añadió a la

colonia unas gotas de agua oxigenada al 10% si la reacción de la catalasa es positiva se forman burbujas que indican la presencia de la enzima catalasa.

## 7.12 Identificación de bacterias lácticas

La identificación de especies de BAL se llevó a cabo mediante en un equipo Microflex LT MALDI-TOF MS (Matrix-assited laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, en español: desorción láser asistida por la matriz con detección de masas por tiempo de vuelo) (Bruker-Daltonics), utilizando el software MALDI-BIOTYPER RTC aplicando el método MBT\_FC que se basa en permitir la identificación de microorganismos mediante el análisis de proteínas, principalmente ribosomales a partir de colonias frescas; este análisis se basa en la obtención de un espectro de masas que es específico para cada especie. Los espectros se generaron con 240 disparos con los parámetros preestablecidos en el método y se compararon con la librería BDAL.

En detalle, se transfirieron colonias frescas de BAL (24 h a 48 h), de un cultivo puro en agar MRS siguiendo el método de transferencia directa (Bruker-Daltonics) a una placa MSP 96 target polished steel BC y se cubrió con 1 $\mu$ L de solución de matriz HCCA. El criterio para una identificación exitosa mediante esta técnica se estableció en un score mayor a 1.7, como se observa en la Figura 18.

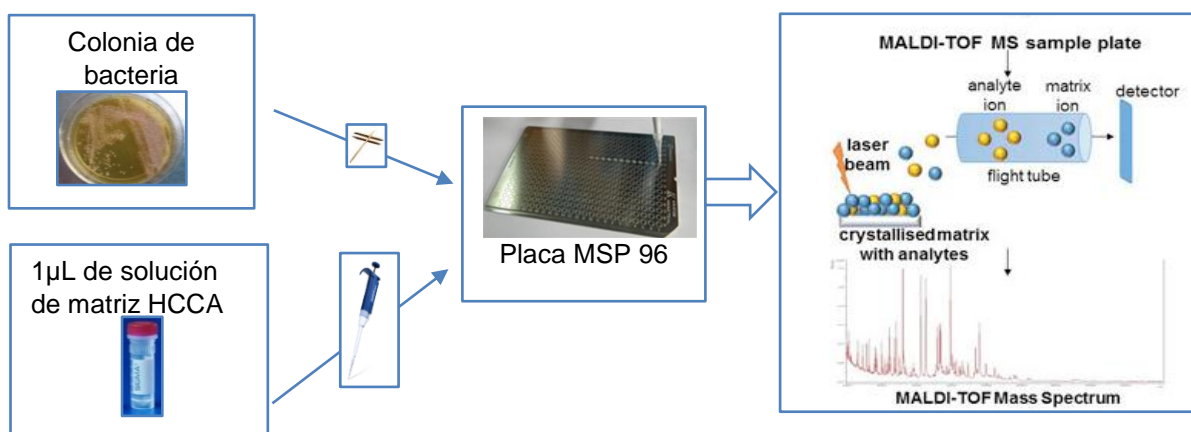


Figura 18. Método de identificación de BAL.

### 7.13 Identificación de BAL con capacidad de biotransformación de LA en CLA en medio de cultivo MRS.

Las BAL nativas aisladas de Queso Adobera, Tejuino y Pulque, fueron activadas a 37°C en caldo MRS; estos cultivos activados fueron transferidos al 5% de BAL (.5mL) en 10 mL de caldo MRS y 20mg/mL de aceite rico en LA e incubado por 24h a 37°C (Hernández *et al.* 2009; Rodríguez *et al.* 2011). Después de la incubación se midió; crecimiento de cada BAL en UFC/mL, pH y °Brix como se muestra en el apartado 7.3, con el fin de ver el comportamiento de las BAL nativas durante el experimento de biotransformación en medio de cultivo (Figura 19). Los resultados de cada variable fueron analizados por medio de análisis de varianza (ANOVA) usando el software Statgraphics.

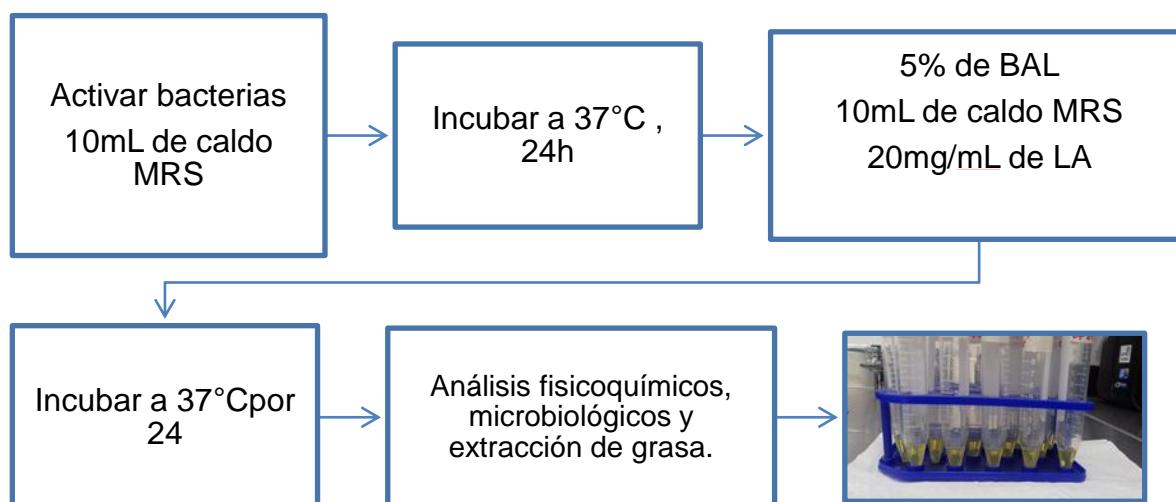


Figura 19. Identificación de BAL con capacidad de biotransformación de LA en CLA en medio MRS.

### 7.14 Extracción de grasa a las muestras de BAL en medio de cultivo.

La extracción de la grasa de las muestras líquidas fue realizada por extracción Líquido-Líquido, de la misma manera que se menciona en el apartado 7.5.

### 7.15 Metilación de grasa

La determinación de CLA se efectuó a partir de su conversión a metil ésteres de ácidos grasos (FAMES), mediante el uso de  $\text{BF}_3$  y subsiguiente separación cromatográfica, como se menciona en el apartado 7.6.



## **7.16 Determinación de CLA por cromatografía de gases**

Las identificaciones de CLA de las muestras fueron identificadas utilizando una columna HP-23 *cis/trans* (60m x 0.25mm ID x 0.25µm ft), inyectando 0.5 µL en un flujo de 1.3 mL/min de He, en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890B acoplado a un detector de masas 5977. La ionización se efectuó a 70eV por EI. La identificación del CLA fue obtenida a partir de la comparación de espectros de los picos de la muestra con los de la biblioteca NIST14, así como por los espectros y tiempos de retención de un estándar puro conteniendo isómeros de CLA (*cis* -9, *trans* -11 y *trans*-10, *cis* -12), adquiridos en modo SIM. La cuantificación del CLA en las muestras fue realizada a partir de una calibración externa utilizando disoluciones de 0.1-100 ppm de CLA al 99% de pureza (SIGMA-ALDRICH) (NMX-F-017-SCFI-2011).

## **7.17 Selección de BAL nativas con capacidad de biotransformar LA en CLA**

Se seleccionaron las BAL nativas que tuvieron una mayor biotransformación a CLA en medio de cultivo MRS, para probarse en la matriz de cada producto de las BAL (Queso Adobera, Tejuino y Pulque).

## **7.18 Capacidad de biotransformación de bacterias lácticas nativas en una matriz láctea de Queso Adobera (Cuajada).**

Para este diseño experimental se seleccionaron las BAL nativas de Queso Adobera que mostraron mayor capacidad de biotransformación de CLA, se preparó en una matriz láctea se tomó en cuenta: un control, cada BAL seleccionada y una mezcla de estas mismas como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Diseño experimental de biotransformación a CLA en una matriz láctea.

<b>Muestra</b>	<b>ÁCIDO LINOLEICO (20mg/g)</b>	<b>BACTERIA 5%</b>	<b>Matriz láctea (250g)</b>
<b>M-1</b>	-	-	Cuajada
<b>M-2</b>	LA	-	Cuajada
<b>M-3</b>	LA	BAL 1	Cuajada
<b>M-4</b>	LA	BAL 2	Cuajada
<b>M-5</b>	LA	BAL 3	Cuajada
<b>M-6</b>	LA	Mezcla de BAL	Cuajada

-No lo contiene

Para cada tratamiento se utilizó leche bronca obtenida en una quesería que recolecta la leche en los municipios de Jalisco, previamente pasteurizada. Con esta leche se elaboró Queso tipo Adobera a cuya cuajada se le adicionaron el LA y las BAL, el producto final se incubó a 37°C por 24h como se muestra en la Figura 20.

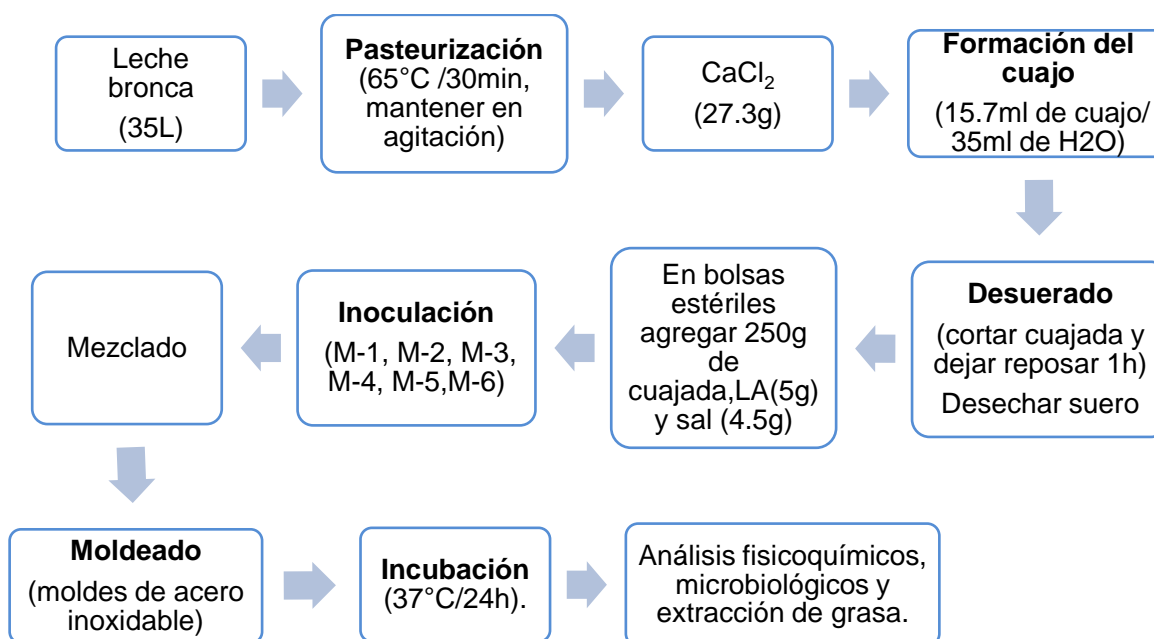


Figura 20. Diagrama de elaboración de Queso tipo Adobera.

Después de la incubación se realizaron pruebas ..microbiológicas y fisicoquímicas: determinando el crecimiento de las BAL contando en UFC/mL; se le realizó análisis fisicoquímico: pH,  $a_w$ , determinación de color (como se menciona en el apartado 7.5) y % de Humedad (El método se basa en la determinación gravimétrica de la pérdida de masa, de la muestra desecada hasta masa constante en estufa de aire (NOM-243-SSA1-2010)). Los resultados de cada variable fueron analizados por medio de análisis de varianza (ANOVA) usando el software Statgraphics.

Extracción de grasa; se llevó a cabo por el método de extracción en soxthle descrito en el apartado 7.4, después se mantuvo en refrigeración a 4°C.

### **7.19 Capacidad de biotransformación de bacterias lácticas nativas en una matriz Tejuino (Tejuino sin fermentar).**

Se probó la capacidad de biotransformar el AL a CLA de las BAL nativas aisladas y seleccionadas de Tejuino, de acuerdo a un diseño de experimentos (Tabla 3).

Tabla 3. Diseño de experimentos BAL nativas del Tejuino en una matriz de Tejuino.

<b>Muestra</b>	<b>ÁCIDO LINOLEICO (20mg/mL)</b>	<b>BACTERIA 5%</b>	<b>Matriz de Tejuino (30mL)</b>
<b>M-1</b>	LA	-	Matriz
<b>M-2</b>	LA	BAL 1	Matriz
<b>M-3</b>	LA	BAL 2	Matriz
<b>M-4</b>	LA	BAL 3	Matriz
<b>M-5</b>	LA	Mezcla de BAL	Matriz
<b>M-6</b>	LA	Inóculo	Matriz

-No lo contiene

El experimento se llevó a cabo con una matriz de Tejuino la cual se preparó en base a las técnicas usadas por los productores artesanales, para la elaboración de este producto, esta matriz se esterilizó (118°C/12min), se adicionaron las BAL y el aceite rico en LA, dejándose incubar a 37°C por 24h, después de la incubación se determinó el crecimiento de BAL en UFC/mL en medio de cultivo MRS; se llevaron a cabo determinaciones fisicoquímicas: pH; °Brix y color (como se menciona en el apartado 7.3), los cuales se analizaron estadísticamente mediante análisis de varianza (ANOVA) por Statgraphics (Figura 21). La extracción de grasa se realizó usando el método Líquido-líquido descrito en el apartado 7.5 después se mantuvo en refrigeración a 4°C.

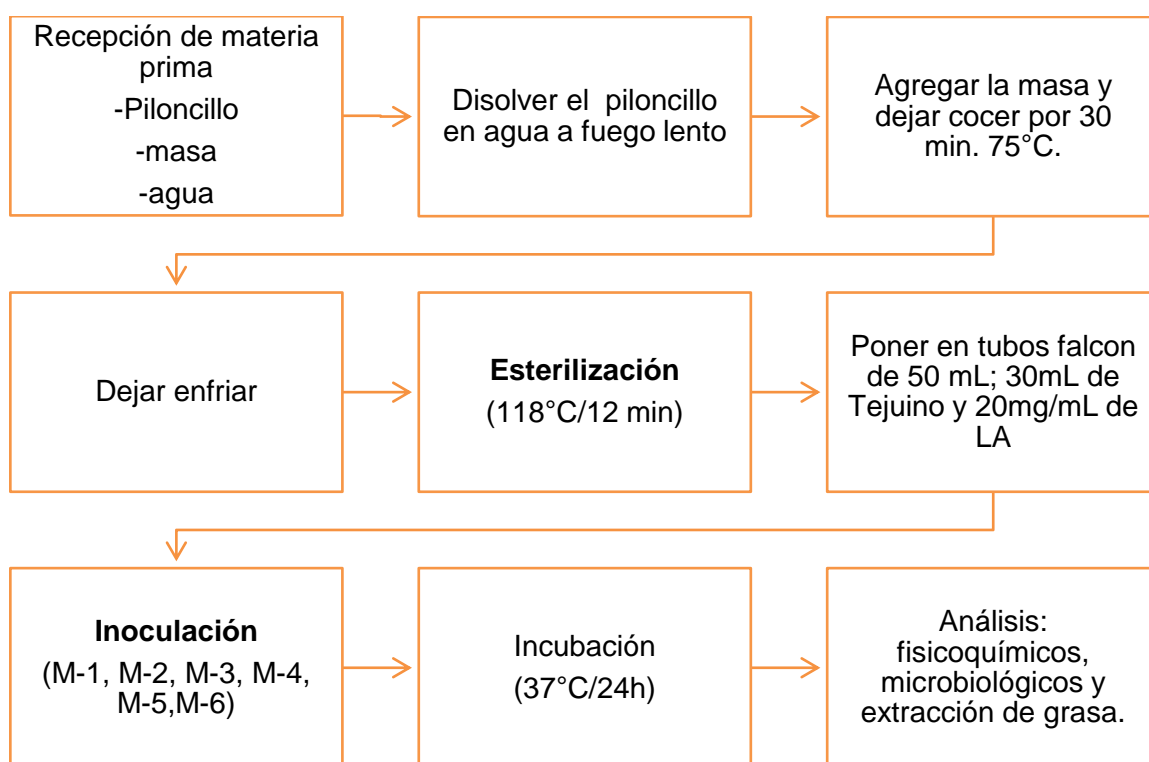


Figura 21. Diagrama de elaboración de Tejuino.

## 7.20 Capacidad de biotransformación de bacterias lácticas nativas en la matriz de Pulque (Aguamiel)

Se probó la capacidad de biotransformar el LA a CLA de las BAL aisladas de Pulque, de acuerdo a un diseño de experimentos (Tabla 4). Se utilizó como matriz el aguamiel que es la

materia prima de elaboración de pulque previamente esterilizada y agregando a las muestras las BAL seleccionadas y el aceite rico en LA.

Tabla 4. Diseño de experimentos BAL nativas de Pulque en una matriz Aguamiel.

<b>Muestra</b>	<b>ÁCIDO LINOLEICO</b> <b>(20mg/mL)</b>	<b>BACTERIA</b> <b>(5%)</b>	<b>Matriz de Pulque</b> <b>(30mL)</b>
<b>M-1</b>	LA	-	Aguamiel
<b>M-2</b>	LA	BAL 1	Aguamiel
<b>M-3</b>	LA	BAL 2	Aguamiel
<b>M-4</b>	LA	BAL 3	Aguamiel
<b>M-5</b>	LA	Mezcla de BAL	Aguamiel
<b>M-6</b>	LA	Inóculo	Aguamiel

-No lo contiene

El experimento se preparó a partir de una matriz de Pulque (Aguamiel), se recolectó la materia prima directamente de la planta (maguey) se le dio un tratamiento de pasteurización para poder transportarla y evitar el crecimiento de sus microorganismos autóctonos, se transportó en una hielera con refrigerantes, alrededor de 24h después se le dio un tratamiento de esterilización (118°C/12 min.) para proceder se determinó el crecimiento de BAL en UFC/mL en medio de cultivo MRS, al producto se le midieron algunos parámetros fisicoquímicos: pH; °Brix y color (como se menciona en el apartado 7.3). Los resultados de cada variable fueron analizados por medio de análisis de varianza (ANOVA) usando el software Statgraphics (Figura 22).

La extracción de grasa de las muestras después de su incubación; se llevó a cabo por el método Líquido-líquido descrito en el apartado 7.5 después se mantuvo en refrigeración a 4°C

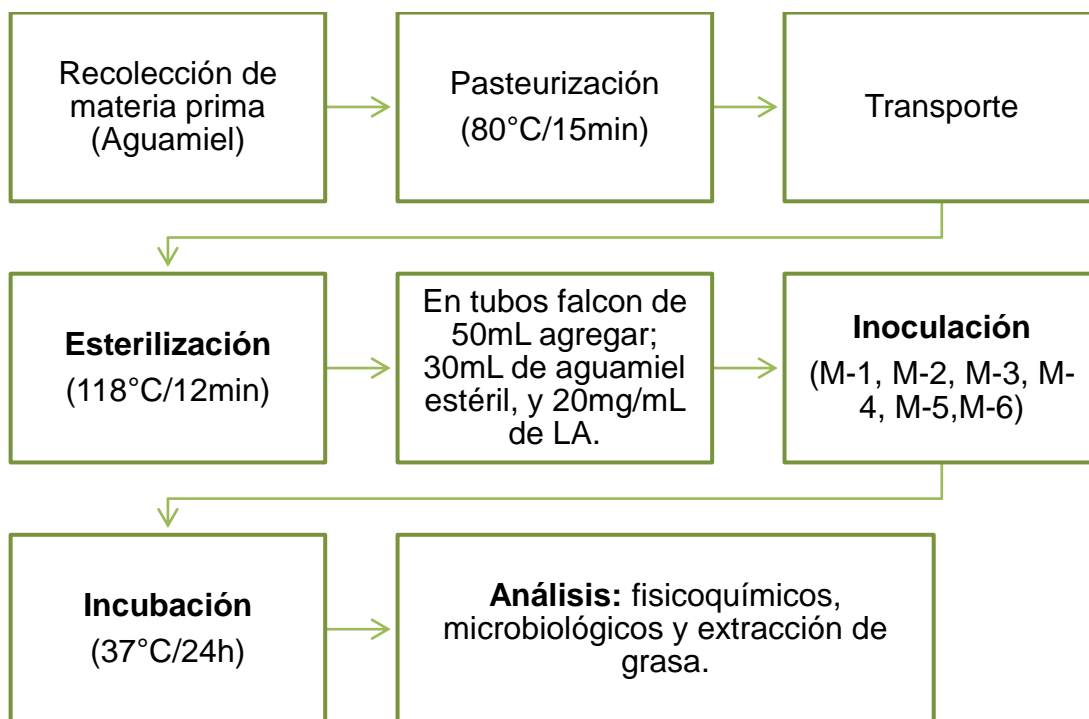


Figura 22. Diagrama de elaboración de Pulque.

### 7.21 Metilación de grasa de matrices

La determinación de CLA se efectuó a partir de la formación de metil ésteres de ácidos grasos (FAMES), mediante el uso de  $\text{BF}_3$  como se menciona en el apartado 7.7. Este método se llevó a cabo para cada muestra de grasa de obtenida de cada diseño de las tres matrices de los productos (Queso Adobera, Tejuino y Pulque).

### 7.22 Determinación de CLA por cromatografía de gases

Los CLA fueron determinados en las muestras por cromatografía de gases masas, usando un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890B acoplado a un detector de masas 5977, utilizando una columna HP-23 *cis / trans* (60m x 0.25mm ID x 0.25µm ft), utilizando la metodología que se encuentra en el apartado 7.15.

### 7.23 Análisis estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo mediante un análisis de varianza (ANOVA) usando el software Statgraphics Centurion XVII, utilizando un diseño multifactorial el cual permite realizar análisis de uno o más factores.

## 8. Resultados

---

## 8.1 Caracterización fisicoquímica de productos fermentados artesanales

Los tres productos fermentados artesanales (Queso Adobera, Tejuino y Pulque), fueron caracterizados fisicoquímicamente, los resultados son el promedio de tres réplicas como se muestra en la Tabla 5. Se determinó pH, ácida (%) y Color, al Tejuino y Pulque se les midió °Brix, para el caso de Queso adobera actividad de agua ( $a_w$ ) y humedad (%). Es importante recordar que los tres productos son fermentados por lo que mostraron valores de pH entre 3 y 5, donde el menor valor de pH lo presentó el Tejuino pH 3.38; con respecto a la medición para el parámetro L, el queso Adobera para fundir y el Pulque presentaron valores superiores que el Tejuino debido a que la coloración del Tejuino es más oscura que los otros dos productos, la actividad de agua y la humedad, se realizó únicamente para el queso ya que es el único producto sólido, éste presentó valores de 0.95 de  $a_w$  y 35.77% de humedad, estos valores nos indican que este producto tiende a ser muy perecedero.

Tabla 5. Caracterización fisicoquímica de los productos comerciales artesanales.

Producto	pH	Ácida (%)	Color	°Brix	$a_w$	% Humedad	
Queso Adobera	5.33	14.16	L	84.08	-	0.9583	35.77
			a*	1.89			
			b*	19.58			
Tejuino	3.38	2.64	L	46.71	22.4	-	-
			a*	5.01			
			b*	34.71			
Pulque	4.06	6.18	L	66.22	11.5	-	-
			a*	1.44			
			b*	9.96			

- Datos no analizados.



## 8.2 Perfil lipídico de Queso Adobera y Tejuino

A continuación se muestra el perfil general de ácidos grasos presentes en Queso Adobera y Tejuino, con respecto al producto Pulque no se obtuvo grasa, ya que este producto presenta cantidades de 0% de acuerdo a lo reportado por Colín y colaboradores en 2012 por lo que no se pudo realizar el perfil lipídico.

Para el Queso Adobera y Tejuino, los contenidos de ácidos grasos que se muestran en la Tabla 6, son expresados en % de área, donde se observa la presencia de algunos ácidos grasos esenciales tales como linoleico ( $\Omega 6$ ), linolénico ( $\Omega 3$ ) y oleico ( $\Omega 9$ ) para ambos productos. El ácido graso eicosenoico ( $\Omega 9$ ) estuvo presente sólo en Tejuino, mientras que el ácido araquidónico ( $\Omega 6$ ) y CLA (cis-9, trans-11) se detectaron sólo en el queso.

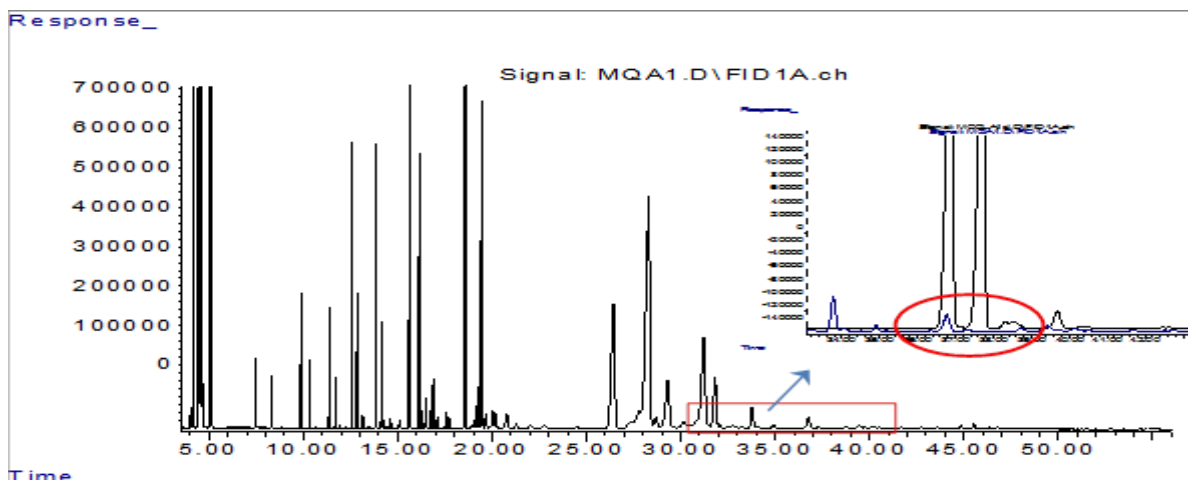
Tabla 6. Perfil lipídico de Queso Adobera y Tejuino (% de área).

Ácido Graso	Queso Adobera	Tejuino
Butanoico	1.01	-
Hexanoico	1.30	-
Heptanoico	0.02	-
Octanoico	0.96	0.04
Nonanoico	0.03	-
Decanoico	2.43	0.07
Undecanoico	0.14	0.11
Dodecanoico	3.06	0.21
Tridecanoico	0.13	-
Tetradecanoico	10.18	0.09
Miristoleico	4.48	16.07
Pentadecanoico	1.08	-
Hexadecanoico	26.37	0.21
Palmitoleico	1.18	7.25
Heptadecanoico	0.79	3.47
Octadecanoico	11.86	35.92
Elaídico	0.68	-

cis-Petroselínico	2.16	-
Oleico	24.69	0.79
cis-Vaccenico	0.88	1.58
Linoleico	3.77	32.44
Nonadecanoico	1.23	-
Linolénico	0.23	0.82
9c,11t-CLA	0.82	-
Araquídico	0.17	0.33
Eicosenoico	Tr	0.33
Araquidónico	0.21	-
Docosanoico	0.05	0.11
Tricosanoico	0.03	-
Lignocérico	0.06	0.16

El Queso Adobera mostró la presencia de CLA cis-9, trans-11 esto es debido a que la principal fuente natural de alimentos que contienen CLA en la dieta humana son los productos cárnicos, grasos y lácteos derivados de los rumiantes entre éstos los quesos. El isómero de CLA como se observar en la Figura 23, en el cromatograma de la derecha en el círculo rojo, donde se observa el pico correspondiente dentro del cromatograma comparado con el estándar de isómeros de CLA (Park y Pariza 2007; Churruca *et al.* 2009; Andrade *et al.* 2012; Sosa *et al.* 2014; Leon *et al.* 2014; Bo Yang *et al.* 2015).

El CLA cis-9, trans-11, que es uno de los isómeros más importantes de acuerdo a lo reportado por diversos investigadores por su potencial para reducir la masa corporal y algunas otras propiedades, en los Estados Unidos de América el CLA fue aprobado como GRAS (generalmente reconocido como seguro) en 2008 ( Kim *et al.* 2016).



Figuran 23. Cromatograma de perfil lipídico de Queso Adobera.

En el perfil lipídico de Tejuino no se detectó la presencia de ningún isómero de CLA Figura 24; posiblemente este resultado se deba a que la matriz de este producto es de origen vegetal ya que se ha reportado que los isómeros de CLA se encuentran en los productos derivados de animales rumiantes (Park y Pariza. 2007; Andrade *et al.* 2012; Sosa *et al.* 2014; Bo Yang *et al.* 2015).

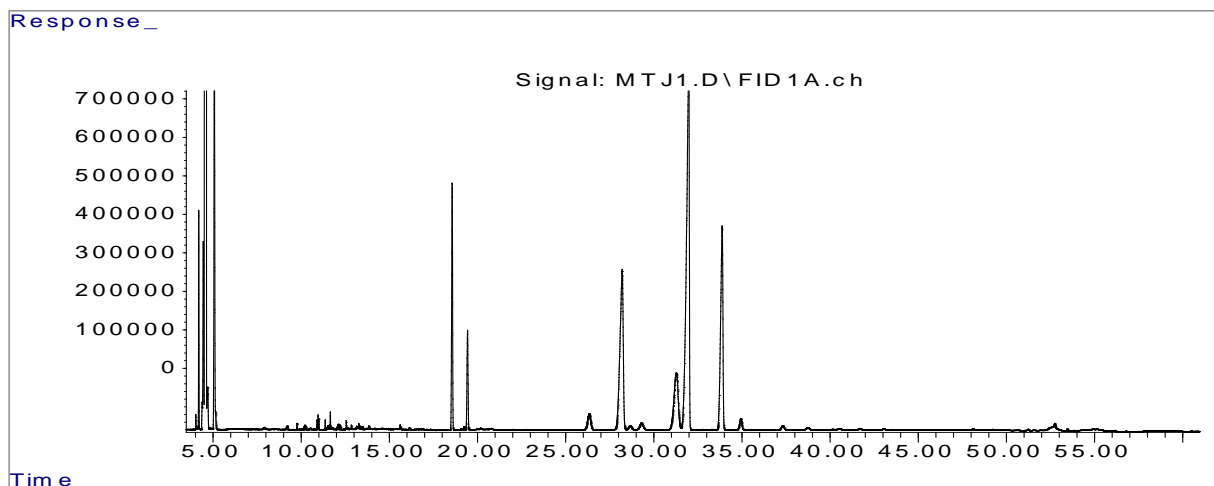


Figura 24. Cromatograma de perfil lipídico de Tejuino.

### 8.3 Calidad microbiológica de productos fermentados artesanales (Queso Adobera, Tejuino y Pulque)

Se midió la calidad microbiológica de los tres productos artesanales analizados en este trabajo (Queso Adobera, Tejuino y Pulque) de acuerdo a los grupos microbianos analizados

(Coliformes totales en placa, Hongos, Levaduras, bacterias aerobias mesófilas y bacterias lácticas) (Tabla 7).

Tabla 7. Calidad microbiológica de los productos artesanales.

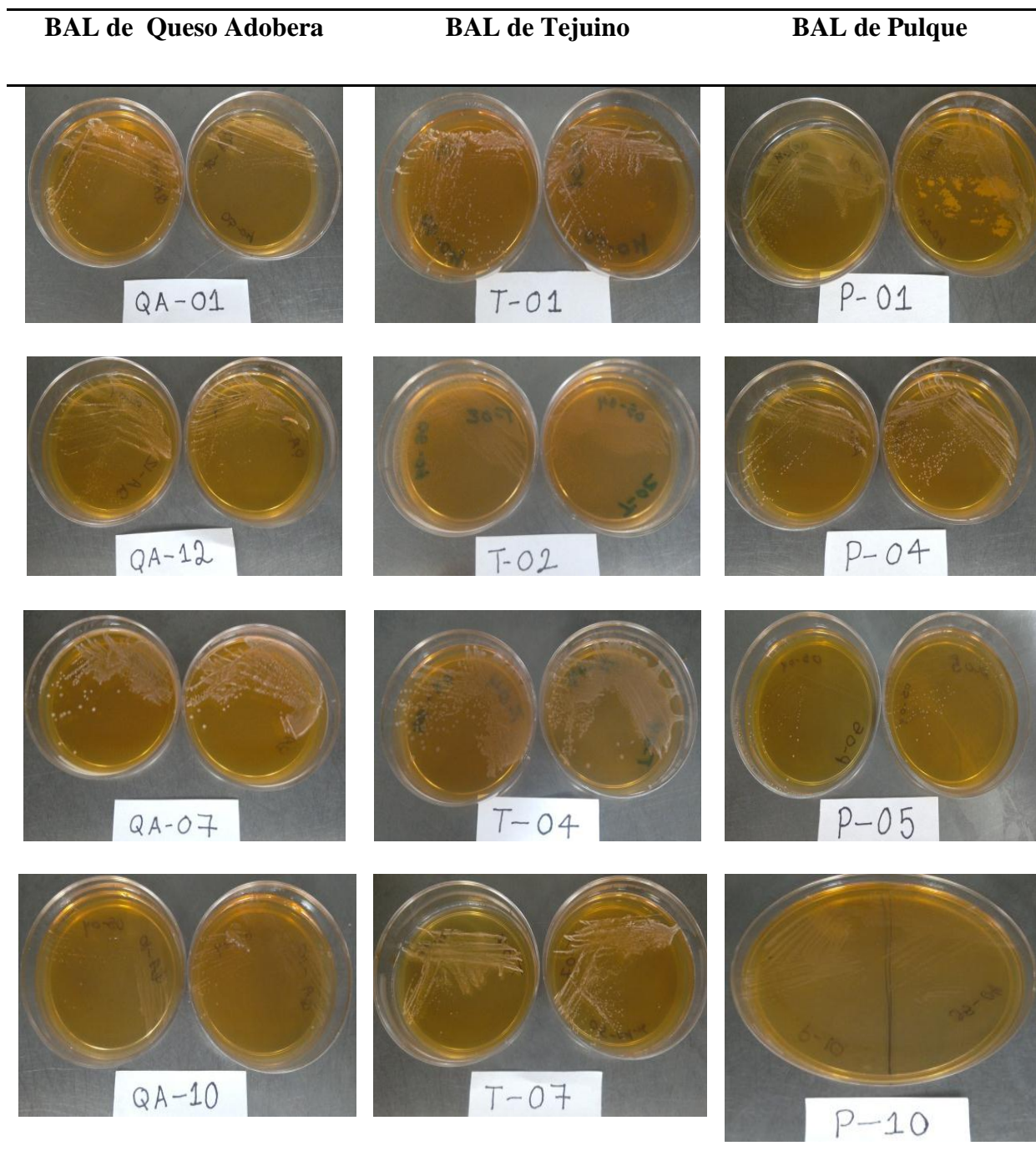
<b>Grupos microbianos analizados (UFC/mL y/o gr)</b>	<b>Queso Adobera</b>	<b>Tejuino</b>	<b>Pulque</b>
Coliformes totales	2.40E <sup>+05</sup>	1.70E <sup>+04</sup>	1.50E <sup>+03</sup>
Hongos	<10	3.00E <sup>+01</sup>	1.50E <sup>+01</sup>
Levaduras	2.50E <sup>+02</sup>	4.90E <sup>+03</sup>	3.50E <sup>+01</sup>
Lácticas	3.80E <sup>+07</sup>	2.80E <sup>+07</sup>	2.90E <sup>+09</sup>
Aerobias	2.50E <sup>+03</sup>	9.00E <sup>+04</sup>	1.80E <sup>+05</sup>

Los resultados son el promedio de dos repeticiones

#### **8.4 Caracterización morfológica de BAL de productos artesanales (Queso Adobera, Tejuino y Pulque)**

A partir del análisis minucioso realizado de forma, tamaño y color de las colonias de cada producto artesanal (Queso adobera, Tejuino y Pulque), se obtuvieron 30 colonias morfológicamente diferentes de BAL; 8 colonias a partir de Tejuino que se caracterizaron por presentar bordes ondulado y lobulado con elevación plana de formas circulares e irregular; 12 colonias a partir de Queso Adobera presentaron formas circulares con bordes ondulado, entero, elevación convexa y elevada. Del Pulque se obtuvieron 10 colonias diferentes estas se caracterizaron por presentar forma circular e irregular con borde entero, ondulado, lobulado, con elevación convexa y plana. En la Tabla 8, se encuentran algunas colonias aisladas de cada producto, siendo estas morfológicamente diferentes.

Tabla 8. Colonias aisladas de cada producto (Queso Adobera, Tejuino y Pulque).



## 8.5 Pruebas bioquímicas primarias de BAL nativas de Queso Adobera

Se caracterizaron las doce BAL de Queso Adobera como se muestra en la Tabla 9, las ocho BAL aisladas de Tejuino como se observa en la Tabla 10 y las diez BAL aisladas de Pulque mostradas en la Tabla 11, como se observa en cada tabla todas las BAL mostraron ser Gram + (Anexo 1), catalasa negativa y no forman esporas, siendo estas las características que identifican a las BAL, el crecimiento de cada una de estas colonias en medio de cultivo MRS a 37°C/24h fue de  $1 \cdot 10^7$  y  $1 \cdot 10^8$  UFC/mL que se encuentra entre los Log. 7 y 9 UFC/mL como lo mencionan algunos autores (Parra *et al.* 2010; Olvera *et al.* 2015).

Tabla 9. Caracterización de BAL nativas de Queso Adobera.

Bacterias	Tinción de Gram	Catalasa	Esporas	Crecimiento UFC/g
QA-1	Positiva	Negativa	No forma esporas	$1.3E^{+08}$
QA-2	Positiva	Negativa	No forma esporas	$9.2E^{+07}$
QA-3	Positiva	Negativa	No forma esporas	$8.0E^{+07}$
QA-4	Positiva	Negativa	No forma esporas	$1.3E^{+08}$
QA-5	Positiva	Negativa	No forma esporas	$5.8E^{+07}$
QA-6	Positiva	Negativa	No forma esporas	$1.5E^{+08}$
QA-7	Positiva	Negativa	No forma esporas	$1.8E^{+08}$
QA-8	Positiva	Negativa	No forma esporas	$1.7E^{+08}$
QA-9	Positiva	Negativa	No forma esporas	$7.0E^{+07}$
QA-10	Positiva	Negativa	No forma esporas	$2.3E^{+08}$
QA-11	Positiva	Negativa	No forma esporas	$1.2E^{+08}$
QA-12	Positiva	Negativa	No forma esporas	$1.0E^{+08}$

Tabla 10. Caracterización de BAL nativas de Tejuino.

<b>Bacterias</b>	<b>Tinción de Gram</b>	<b>Catalasa</b>	<b>Esporas</b>	<b>Crecimiento UFC/mL</b>
T-1	Positiva	Negativa	No forma esporas	2.5E <sup>+08</sup>
T-2	Positiva	Negativa	No forma esporas	2.4E <sup>+08</sup>
T-3	Positiva	Negativa	No forma esporas	1.7E <sup>+08</sup>
T-4	Positiva	Negativa	No forma esporas	8.6E <sup>+07</sup>
T-5	Positiva	Negativa	No forma esporas	2.7E <sup>+08</sup>
T-6	Positiva	Negativa	No forma esporas	1.4E <sup>+08</sup>
T-7	Positiva	Negativa	No forma esporas	1.2E <sup>+08</sup>
T-8	Positiva	Negativa	No forma esporas	2.4E <sup>+08</sup>

Tabla 11. Caracterización de BAL nativas de Pulque.

<b>Bacterias</b>	<b>Tinción Gram</b>	<b>Catalasa</b>	<b>Esporas</b>	<b>Crecimiento UFC/mL</b>
P-1	Positiva	Negativa	No forma esporas	2.0E <sup>+08</sup>
P-2	Positiva	Negativa	No forma esporas	2.1E <sup>+07</sup>
P-3	Positiva	Negativa	No forma esporas	1.1E <sup>+08</sup>
P-4	Positiva	Negativa	No forma esporas	1.1E <sup>+08</sup>
P-5	Positiva	Negativa	No forma esporas	2.9E <sup>+07</sup>
P-6	Positiva	Negativa	No forma esporas	1.6E <sup>+08</sup>
P-7	Positiva	Negativa	No forma esporas	1.7E <sup>+07</sup>
P-8	Positiva	Negativa	No forma esporas	3.8E <sup>+07</sup>
P-9	Positiva	Negativa	No forma esporas	1.6E <sup>+08</sup>
P-10	Positiva	Negativa	No forma esporas	2.6E <sup>+08</sup>

## 8.6 Identificación de género y especie de BAL nativas aisladas de Queso Adobera, Tejuino y Pulque.

Se identificaron 30 BAL nativas aisladas de los tres productos artesanales en el equipo Microflex LT MALDI-TOF MS (Anexo2), el criterio para una identificación exitosa mediante esta técnica se estableció en un score mayor a 1.7 como lo presentó cada una de las colonias de BAL.

De las 12 colonias nativas que se aislaron de Quesos Adobera, se encuentran dos especies diferentes del mismo género, ocho bacterias identificadas como *Lactobacillus fermentum* (*L. fermentum*) y cuatro identificadas como *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*) (Tabla 12), en otros estudios también reportaron la presencia del género *Lactobacillus* de BAL en muestras de Queso Adobera (Pelayo *et al.*, 2012).

Tabla 12. Identificación de BAL nativas de Queso Adobera.

Muestra	Especie de bacteria
QA-01	<i>L. plantarum</i>
QA-02	<i>L. plantarum</i>
QA-03	<i>L. plantarum</i>
QA-04	<i>L. fermentum</i>
QA-05	<i>L. fermentum</i>
QA-06	<i>L. fermentum</i>
QA-07	<i>L. fermentum</i>
QA-08	<i>L. fermentum</i>
QA-09	<i>L. fermentum</i>
QA-10	<i>L. fermentum</i>
QA-11	<i>L. fermentum</i>
QA-12	<i>L. plantarum</i>

Se identificaron 8 BAL nativas aisladas de la bebida artesanal Tejuino, los resultados se muestran en la Tabla 13, como se puede apreciar fueron identificadas tres especies de BAL el



género *Lactobacillus* de las cuales cuatro pertenecen a *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*), tres a *Lactobacillus fermentum* (*L. fermentum*) y una a *Lactobacillus pantheris* (*L. pantheris*).

El género *Lactobacillus* ya se había reportado en un estudio anterior donde se reportó la presencia de la especie *Lactobacillus acidophilus*, en este trabajo se reportan tres especies más de BAL (*L. fermentum*, *L. pantheris* y *L. plantarum*) aisladas de Tejuino, esto puede deberse a que el producto fue adquirido en un lugar diferente de la Zona Metropolitana de Guadalajara (Flores *et al.* 2009).

Tabla 13. Identificación de BAL nativas de Tejuino.

<b>Muestra</b>	<b>Especie de bacteria</b>
T-01	<i>L. plantarum</i>
T-02	<i>L. pantheris</i>
T-03	<i>L. fermentum</i>
T-04	<i>L. fermentum</i>
T-05	<i>L. fermentum</i>
T-06	<i>L. plantarum</i>
T-07	<i>L. plantarum</i>
T-08	<i>L. plantarum</i>

Las 10 BAL que se aislaron del Pulque pertenecen al género *Lactobacillus*. En cuanto a especie seis de ellas fueron identificadas como *Lactobacillus fermentum* (*L. fermentum*), dos *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*), una *Lactobacillus brevis* (*L. brevis*) y una como *Lactobacillus pantheris* (*L. pantheris*) como se muestra en la Tabla 14, *L. plantarum* y *L. brevis* ya habían sido reportadas en otras investigaciones, en este trabajo se encontraron las especies *L. fermentum* y *L. pantheris*, esto lo atribuimos al origen del producto, ya que cada

lugar es diferente en cuanto a clima, vegetación, suelo, aire, entre otras teniendo como resultado de esto una microflora muy diversa (Escalante, *et al.* 2004; González *et al.* 2015; Torres *et al.* 2016).

Tabla 14. Identificación de BAL nativas de Pulque.

<b>Muestra</b>	<b>Especie de bacteria</b>
P-01	<i>L. brevis</i>
P-02	<i>L. fermentum</i>
P-03	<i>L. fermentum</i>
P-04	<i>L. plantarum</i>
P-05	<i>L. fermentum</i>
P-06	<i>L. fermentum</i>
P-07	<i>L. fermentum</i>
P-08	<i>L. fermentum</i>
P-09	<i>L. plantarum</i>
P-10	<i>L. pantheris</i>

### **8.7 Identificación de la capacidad biotransformadora de LA en CLA de las BAL nativas de Queso Adobera en medio MRS.**

Como se puede apreciar en la Tabla 15, todas las especies de BAL nativas de Queso Adobera fueron capaces de biotransformar el AL en CLA.

La mayoría de BAL *L. fermentum* tienen una mayor biotransformación con respecto a las *L. plantarum* éstas se encuentran en un rango de 15.53 a 19.22 mg/L de CLA *cis* -9, *trans* -11 y 11.22 a 13.97 mg/L de CLA *trans*-10, *cis* -12 con excepción de una la muestra QA-04 de *L. fermentum* que tiene una biotransformación de y 3.55 mg/L de *trans*-10, *cis* -12.

Las BAL *L. plantarum*, mostraron un rango de 6.28 a 14.52 mg/L de CLA *cis* -9, *trans* -11 y 4.45 a 9.37 mg/L de CLA *trans*-10, *cis* -12. De acuerdo al análisis estadístico se muestra que existe una diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95% entre las muestras con respecto a la biotransformación de CLA.

Tabla 15. Capacidad biotransformadora de LA en CLA de las BAL nativas, de Queso Adobera en medio de cultivo (MRS).

Muestra	Especie de bacteria	CLA	CLA
		( <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 ) (mg/L)	( <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12) (mg/L)
QA-01	<i>L. plantarum</i>	9.34	6.95
QA-02	<i>L. plantarum</i>	6.28	4.46
QA-03	<i>L. plantarum</i>	6.47	4.45
QA-04	<i>L. fermentum</i>	0.25	3.50
QA-05	<i>L. fermentum</i>	16.03	12.38
QA-06	<i>L. fermentum</i>	16.11	12.08
QA-07	<i>L. fermentum</i>	15.53	11.22
QA-08	<i>L. fermentum</i>	16.78	11.75
QA-09	<i>L. fermentum</i>	18.50	12.85
QA-10	<i>L. fermentum</i>	19.22	13.97
QA-11	<i>L. fermentum</i>	18.23	9.75
QA-12	<i>L. plantarum</i>	14.52	9.37

En la siguiente figura podemos observar la biotransformación producida por las BAL nativas de Queso Adobera. Los resultado muestran dos especies de BAL de las cuales seleccionamos tres que lograron una mayor biotransformación del LA en CLA. Dos especies de *L. fermentum* y una especie *L. plantarum*, (círculos rojos), estas bacterias fueron seleccionadas para estudiar su biotransformación en una matriz de Queso Adobera Figura 25.

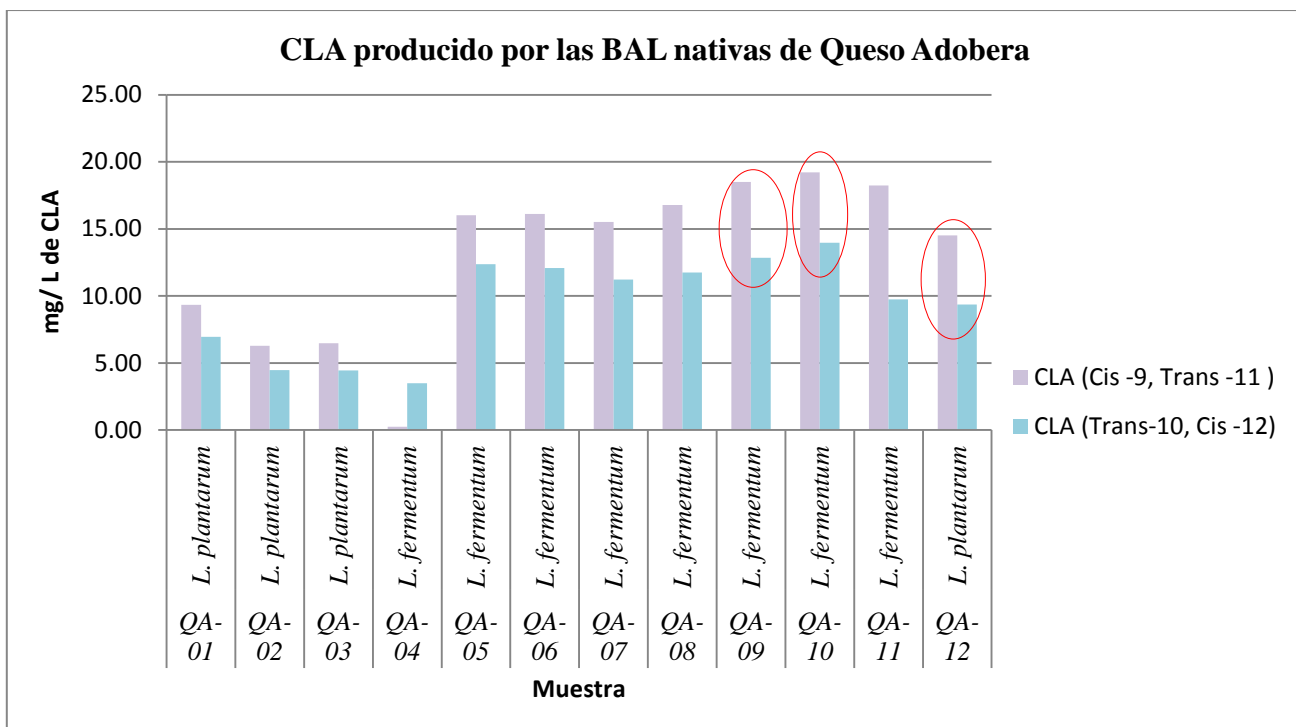


Figura 25. Biotransformación de las BAL nativas de Queso Adobera en medio MRS.

### 8.8 Identificación de la capacidad biotransformadora de LA en CLA de las BAL nativas, de Tejuino en medio MRS.

Todas las BAL nativas, aisladas de Tejuino fueron capaces de biotransformar el LA en CLA (Tabla 16).

La especie de BAL en la que se aprecia una mayor capacidad de biotransformación es la *L. fermentum*, la cual biotransformó el LA en un rango de 19.41mg/L a 22.18 mg/L de CLA *cis*-9, *trans*-11 y en un rango de 13.04 mg/L a 15.8 mg/L de CLA *trans*-10, *cis*-12.

La BAL *L. pantheris* biotransformó el LA en 17.26 mg/L de CLA *cis*-9, *trans*-11 y 9.56 mg/L de CLA *trans*-10, *cis*-12, esta BAL logro llevar a cabo una mayor biotransformación que las *L. plantarum*.

Las BAL *L. plantarum* biotransformaron el LA en CLA *cis* -9, *trans* -11, en un rango de 11.65 mg/L a 12.04 mg/L y el CLA *trans*-10, *cis* -12 en un rango de 7.10 mg/L a 8.24 mg/L.

De acuerdo al análisis estadístico se muestra que existe una diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95% entre las muestras con respecto a la biotransformación de CLA.

Tabla 16. Capacidad biotransformadora de LA en CLA de las BAL nativas, de Tejuino en MRS.

Muestra	Especie de bacteria	CLA	CLA
		( <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 ) (mg/L)	( <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12) (mg/L)
T-01	<i>L. plantarum</i>	11.87	7.55
T-02	<i>L. pantheris</i>	17.26	9.56
T-03	<i>L. fermentum</i>	21.62	14.45
T-04	<i>L. fermentum</i>	19.41	13.04
T-05	<i>L. fermentum</i>	20.51	13.74
T-06	<i>L. plantarum</i>	12.04	7.10
T-07	<i>L. plantarum</i>	11.65	8.24
T-08	<i>L. plantarum</i>	11.92	7.31

En la siguiente grafica (Figura 26) podemos observar la biotransformación de las BAL nativas de Tejuino. Como resultado tenemos una selección de tres BAL (círculos rojos), de diferente especie que lograron biotransformar mas el LA en CLA, una *L. fermentum*, una *L. pantheris* y una *L. plantarum*, las cuales se estudiará su biotransformación en una matriz de Tejuino.

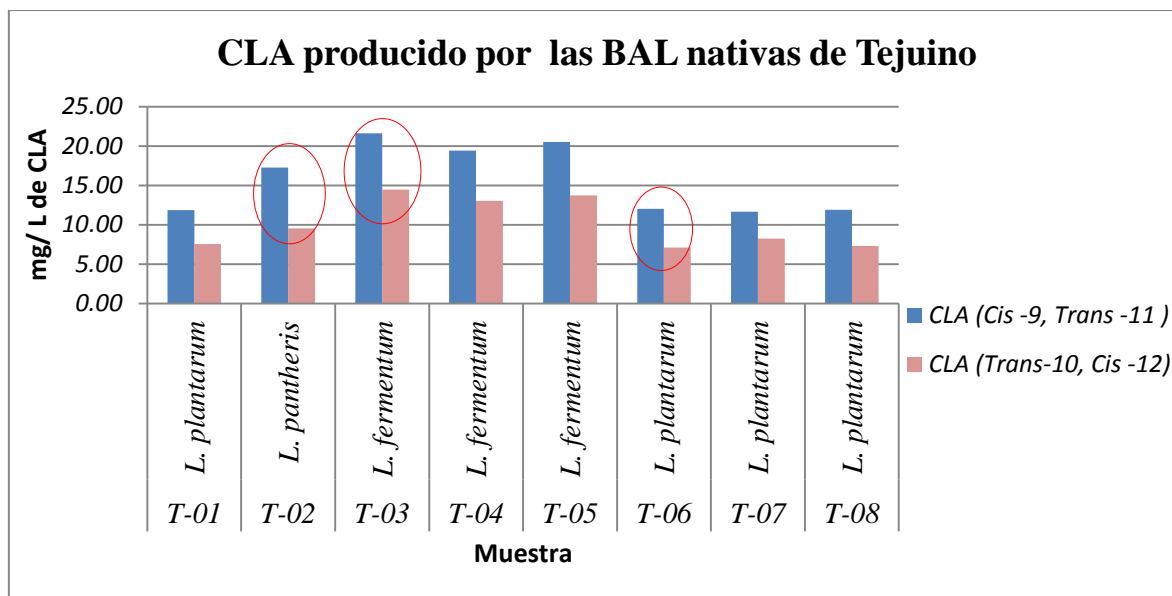


Figura 26. Biotransformación de las BAL nativas de Tejuino en medio MRS.

### 8.9 Identificación de la capacidad biotransformadora de LA en CLA de las BAL nativas, de Pulque en medio MRS.

Las 10 BAL nativas de pulque tuvieron la capacidad de biotransformar el LA en CLA (Tabla 17). La especie que presenta una mayor biotransformación es la *L. brevis*, siguiéndole algunas especies de *L. fermentum* y la *L. pantheris*, mientras que las que tienen una menor biotransformación son las *L. plantarum*.

Las BAL *L. fermentum* presentan dos grupos en cuanto a su capacidad de biotransformación de LA en CLA; como se puede apreciar tres de ellas tuvieron una biotransformación superior a 19mg/L y por encima de 13mg/L de los isómeros de CLA (*cis*-9, *trans*-11) y CLA (*trans*-10, *cis*-12) respectivamente. Las otras produjeron menos de 17 mg/L en uno de los isómeros y dos de ellas menos de 12mg/L del isómero de CLA (*trans*-10, *cis*-12).

Las especies de BAL de *L. plantarum* como se observa tienen una biotransformación de CLA similar para el isómero CLA (*cis*-9, *trans*-11) de 12.60 y 12.68 mg/L, y en el caso del isómero CLA (*trans*-10, *cis*-12) tienen una biotransformación de 6.90 y 8.84mg/L.

De acuerdo al análisis estadístico se muestra que existe una diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95.0% entre las muestras con respecto a la biotransformación de CLA.

Tabla 17. Capacidad biotransformadora de LA en CLA de las BAL nativas, de Pulque en MRS.

Muestra	Especie de bacteria	CLA	CLA
		( <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 ) (mg/L)	( <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12) (mg/L)
P-01	<i>L. brevis</i>	24.09	17.90
P-02	<i>L. fermentum</i>	17.79	12.64
P-03	<i>L. fermentum</i>	14.94	13.34
P-04	<i>L. plantarum</i>	12.68	8.84
P-05	<i>L. fermentum</i>	14.79	11.19
P-06	<i>L. fermentum</i>	19.91	13.14
P-07	<i>L. fermentum</i>	17.35	12.66
P-08	<i>L. fermentum</i>	19.35	13.02
P-09	<i>L. plantarum</i>	12.60	6.90
P-10	<i>L. pantheris</i>	19.02	12.32

En la Figura 27 podemos observar la biotransformación de las BAL nativas de Pulque, como resultado tenemos que 4 especies de BAL lograron biotransformar el LA en CLA por lo que seleccionamos 5 BAL (círculos rojos), una *L. brevis*, una *L. plantarum*, una *L. pantheris* y dos *L. fermentum*, para estudiar su biotransformación en una matriz de Pulque.

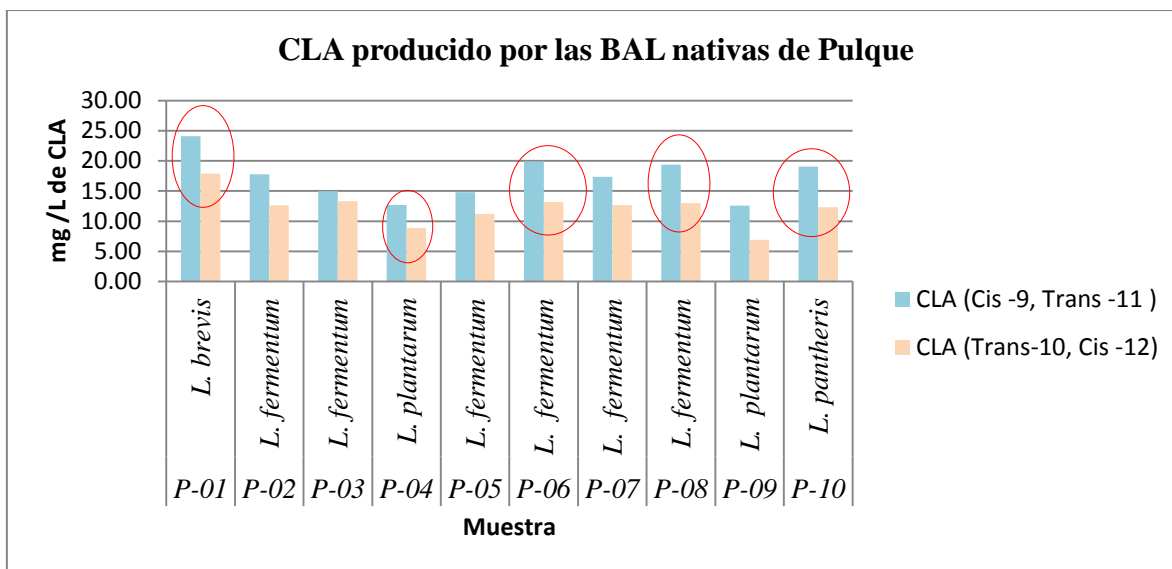


Figura 27. Biotransformación de las BAL nativas de Pulque en medio MRS.

### 8.10 Cambios fisicoquímicos producidos por las BAL nativas durante la biotransformación en medio MRS

Los resultados de pH muestran que las BAL nativas de los tres productos Queso Adobera, Tejuino y Pulque muestran resultados similares como se aprecia en la Figura 28, donde se muestra que las *L. plantarum* se encuentran en un rango entre 3.7 y 3.9, las *L. fermentum*, *L. brevis* y *L. pantheris* se encuentran entre 4.0 y 4.3. Al comparar estos valores con los controles podemos ver como a lo largo de la fermentación disminuye el pH, como resultado de la misma, esto es importante ya que a estos pH bajos hay la biotransformación de CLA de las 30 BAL nativas de Queso Adobera, Tejuino y Pulque.

Con respecto al análisis estadístico se muestra que existe una diferencia estadísticamente significativa en cuanto al pH de las BAL con un nivel de confianza del 95.0%.



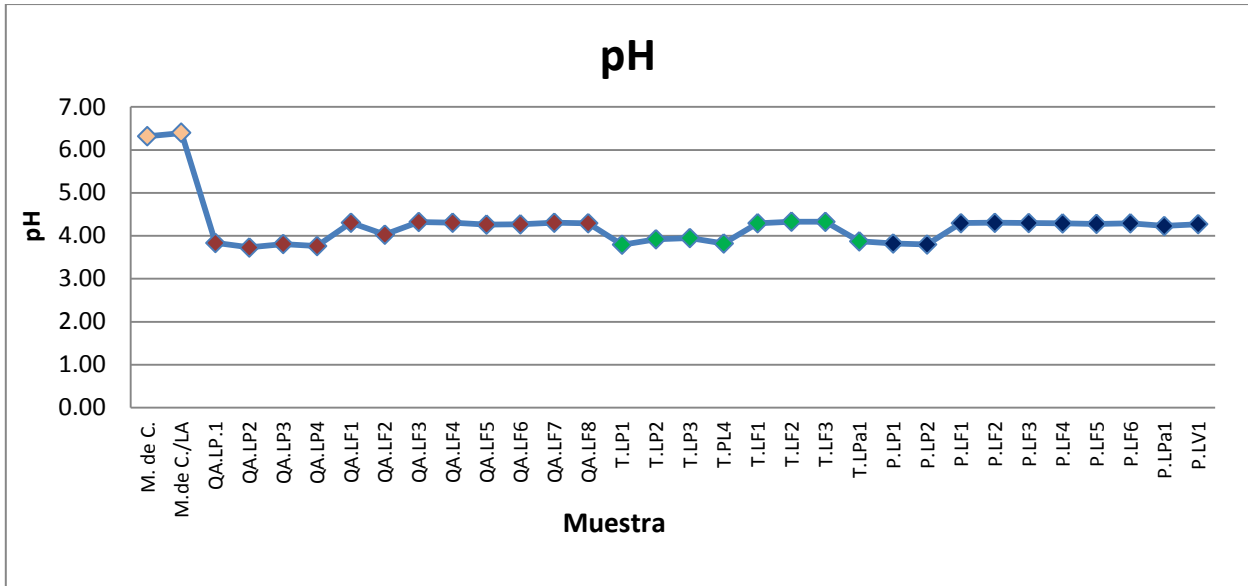


Figura 28. PH de biotransformación de BAL de tres productos en medio MRS.

Los °Brix representan la cantidad aproximada de azúcares disponibles, como podemos observar en la siguiente figura las BAL consumieron cantidades similares de azúcares con excepción de 4 BAL, 2 nativas de Tejuino y 2 nativas de Queso Adobera. Con respecto al análisis estadístico de °Brix en las muestras, se muestra que existe una diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95.0%, (Figura 29).

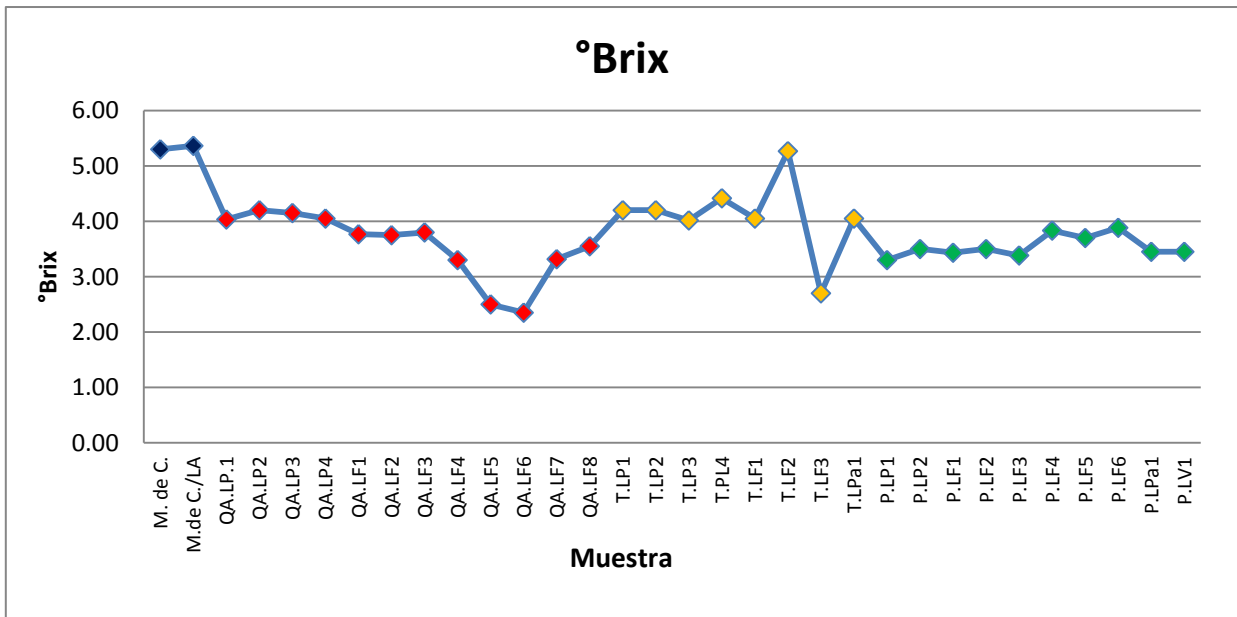


Figura 29. °Brix de biotransformación de BAL de tres productos en medio MRS.

## 8.11 Análisis microbiológico de BAL nativas durante la biotransformación de LA en CLA en medio MRS.

El crecimiento de las BAL es un criterio importante para este estudio que se llevó a cabo a 37°C /24h, como podemos observar en la Tabla 18, en el caso de los controles no hubo crecimiento por lo que aseguramos que no hay contaminación. En el caso de las BAL nativas de Queso Adobera muestran crecimiento similar cada una de las especies (Tabla 19). Las BAL nativas de Tejuino muestran crecimiento las tres especies (Tabla 20).

Las cuatro especies de BAL nativas de Pulque muestran crecimiento similar (Tabla 21); los criterios de crecimiento que se observan para las 30 BAL nativas de los tres productos estudiados muestran crecimientos de 7 y 8 log. UFC/mL, este crecimiento es similar a estudios anteriores donde mencionan que las BAL tiende a crecer entre 7y 9 log, UFC/mL (Parra *et al.*2010; Olvera *et al.* 2015).

Tabla 18. Crecimiento de BAL (Controles).

<b>Experimento</b>	<b>Crecimiento BAL (UFC/ML)</b>
Medio de cultivo	<10
Medio de cultivo / LA	<10

Tabla 19. Crecimiento de BAL nativas de Queso Adobera.

<b>Especie de bacteria</b>	<b>Crecimiento BAL (UFC/ML)</b>
<i>L. plantarum</i>	1.2E <sup>+08</sup>
<i>L. plantarum</i>	1.2E <sup>+08</sup>
<i>L. plantarum</i>	1.4E <sup>+08</sup>
<i>L. plantarum</i>	7.0E <sup>+07</sup>
<i>L. fermentum</i>	1.1E <sup>+08</sup>
<i>L. fermentum</i>	2.1E <sup>+08</sup>
<i>L. fermentum</i>	1.6E <sup>+08</sup>
<i>L. fermentum</i>	1.5E <sup>+08</sup>
<i>L. fermentum</i>	8.1E <sup>+07</sup>
<i>L. fermentum</i>	1.8E <sup>+08</sup>
<i>L. fermentum</i>	1.2E <sup>+08</sup>
<i>L. fermentum</i>	1.3E <sup>+08</sup>

Tabla 20. Crecimiento de BAL nativas de Tejuino.

<b>Especie de bacteria</b>	<b>Crecimiento BAL (UFC/ML)</b>
<i>L. plantarum</i>	1.6E <sup>+08</sup>
<i>L. pantheris</i>	7.4E <sup>+07</sup>
<i>L. fermentum</i>	1.6E <sup>+08</sup>
<i>L. fermentum</i>	1.4E <sup>+08</sup>
<i>L. fermentum</i>	1.1E <sup>+08</sup>
<i>L. plantarum</i>	3.5E <sup>+08</sup>
<i>L. plantarum</i>	2.3E <sup>+08</sup>
<i>L. plantarum</i>	7.0E <sup>+07</sup>

Tabla 21. Crecimiento de BAL nativas de Pulque.

<b>Especie de bacteria</b>	<b>Crecimiento BAL (UFC/ML)</b>
<i>L. brevis</i>	8.5E <sup>+07</sup>
<i>L. fermentum</i>	5.0E <sup>+08</sup>
<i>L. fermentum</i>	1.7E <sup>+08</sup>
<i>L. plantarum</i>	1.1E <sup>+08</sup>
<i>L. fermentum</i>	8.5E <sup>+07</sup>
<i>L. fermentum</i>	1.5E <sup>+08</sup>
<i>L. fermentum</i>	1.4E <sup>+08</sup>
<i>L. fermentum</i>	1.4E <sup>+08</sup>
<i>L. plantarum</i>	5.2E <sup>+08</sup>
<i>L. pantheris</i>	1.7E <sup>+08</sup>

Las 30 BAL nativas aisladas de los tres productos fermentados artesanales Queso adobera, Tejuino y Pulque mostraron tener la capacidad de biotransformar LA en CLA, cabe señalar que los resultados en cuanto a la biotransformación de LA en CLA son dados en mg de CLA por L de grasa.

En total se aislaron 4 especies diferentes de un sólo género, de las cuales las *L. fermentum* aislada de Queso Adobera y Tejuino y la *L. brevis* aislada de Pulque tiende a tener una mayor biotransformación de CLA, resultados similares a las de *L. pantheris* aisladas de Tejuino y Pulque. Las que tuvieron una menor biotransformación son las *L. plantarum*.

En diferentes estudios anteriores las BAL *L. plantarum* presentan biotransformaciones mayores con respecto a otras BAL como la *L. brevis*, algo que en este estudio no lo muestra de esa manera ya que la *L. brevis* mostró mayor biotransformación de CLA. En general la biotransformación es un resultado aceptable pues todas las cepas aisladas en este estudio fueron capaces de llevar a cabo la biotransformación, a pesar de los diferentes estudios donde logran una mayor o menor biotransformación de CLA. Esto puede deberse a las condiciones que diferentes autores manejaban en sus experimentos, como un ejemplo es el tratamiento que le daban a las bacterias, al aceite rico en LA ya sea a el tipo de aceite u origen del mismo (Kishino *et al.* 2002; Lee *et al.* 2003; Ando *et al.* 2003; Ando *et al.* 2004; Song *et al.* 2005; Wang *et al.* 2007; Nieuwenhove *et al.* 2007; Lee *et al.* 2007; Puniya *et al.* 2008; Zeng *et al.* 2009; Hernandez *et al.* 2009; Gorissen *et al.* 2010; Hou *et al.* 2011; Gorissen *et al.* 2011; Rodríguez *et al.* 2011; Zhao *et al.* 2011).

Podemos observar que las BAL aun siendo de la misma especie y del mismo producto no siempre tienden a realizar la misma biotransformación esto es lo que nos mencionan en estudios anteriores que aun siendo la misma especie de BAL no todas tienen la misma capacidad de biotransformación (OgaWa *et al.* 2005).

## **8.12 Capacidad de BAL seleccionadas de biotransformar AL en CLA en las matrices de los productos de origen (Queso Adobera para fundir, Tejuino y Pulque).**

Se seleccionaron tres BAL nativas de Queso Adobera, tres BAL nativas de Tejuino y cinco BAL nativas de Pulque, fueron seleccionadas con respecto a la biotransformación que realizaron de LA en CLA de cada especie durante el estudio en medio de cultivo MRS.

### 8.13 Biotransformación LA en CLA de BAL seleccionadas en una matriz de Queso tipo Adobera (Cuajada)

Los resultados del estudio de biotransformación de AL en CLA en la matriz láctea, muestran que BAL seleccionadas de Queso Adobera, no fueron capaces de biotransformar el LA en los isómeros de CLA, a diferencia de los resultados encontrados con estas mismas bacterias que produjeron los dos isómeros de CLA en el experimento en medio de cultivo MRS. Los controles si presentan el CLA en la muestra de grasa esto se puede atribuir a que la leche es un producto donde por naturaleza se encuentra el CLA presente (Tabla 22).

Tabla 22. Biotransformación de LA en CLA en la matriz Cuajada.

<b>Muestra</b>	<b>CLA (cis-9, trans-11) (mg/L)</b>	<b>CLA (trans-10, cis-12) (mg/L)</b>
Cuajada.	491.6	-
Cuajada / LA	411.41	-
<i>L. fermentum</i> 1	344.25	-
<i>L. fermentum</i> 2	344.25	-
<i>L. plantarum</i>	398.52	-
Mezcla de BAL	418.99	-

### 8.14 Análisis microbiológico en matriz de Queso Adobera

En la siguiente Tabla 23, podemos apreciar que sí hubo crecimiento de las BAL en las muestras después de la incubación a 37°C/24h. Como se puede observar los controles Cuajada y Cuajada / LA también tienen crecimiento, ya que a la leche que se usó para esta matriz sólo

se le dio un tratamiento de pasteurización, este tratamiento térmico sólo es capaz de reducir la carga microbiana no de eliminarla.

Tabla 23. Crecimiento de BAL en matriz de Queso Adobera.

Muestra	Crecimiento BAL (UFC/g)
Cuajada.	5.20E <sup>+05</sup>
Cuajada / LA	1.30E <sup>+06</sup>
<i>L. fermentum</i> 1	2.00E <sup>+07</sup>
<i>L. fermentum</i> 2	1.20E <sup>+07</sup>
<i>L. plantarum</i>	2.00E <sup>+07</sup>
Mezcla de BAL	7.70E <sup>+06</sup>

### 8.15 Composición fisicoquímica de matriz de Queso Adobera (Cuajada)

Queso tipo adobera con BAL de especie *L. plantarum* presenta una apariencia granulosa no forma orificios dentro de su estructura, es algo que se puede observar en la Figura 30.

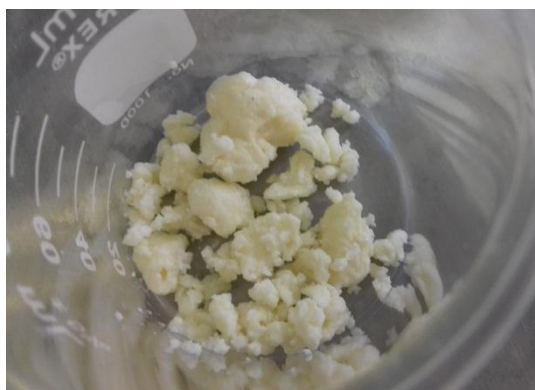


Figura 30. Queso tipo Adobera fermentado por *L. plantarum*.

Queso tipo Adobera con BAL de especie *L. fermentum* las características que formaron este tipo de BAL, fue la formación de pequeños orificios son los huecos que dejan las burbujas de dióxido de carbono, este gas es liberado durante la fermentación láctica como se observa en la Figura 31.

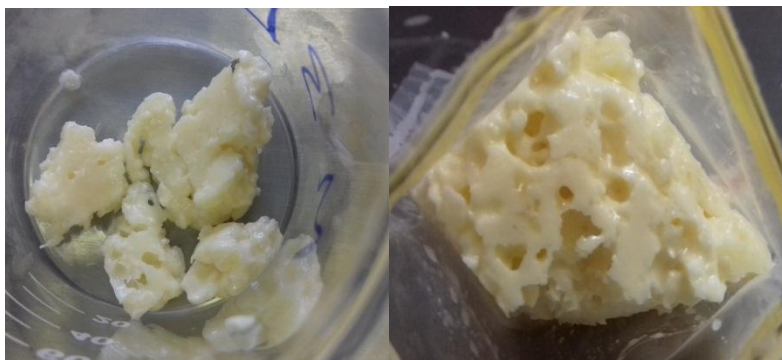


Figura 31. Queso tipo Adobera fermentado por *L. fermentum*.

Como resultados de la composición fisicoquímica de la matriz de Queso adobera podemos observar, que el pH se encuentra en rangos de 5 a 6, una  $a_w$  entre 0.946 y 0.959, la humedad en un % entre 40 y 50, por último los rangos de color del parámetro L: entre 78 y 86, el parámetro  $a^*$  1.7 a 3.5 y el parámetro  $b^*$  19.5 a 25.6, estos datos son similares a los resultados obtenidos en la caracterización de Queso Adobera comercial (Tabla 24).

Tabla 24. Composición fisicoquímica de matriz de Queso Adobera (Cuajada).

Muestra	Color			PH	Humedad (%)	AW
	L*	a*	b*			
Cuajada.	86.07	1.71	19.51	6	44.8	0.959
Cuajada / LA	86.08	1.78	18.88	5.63	47.54	0.946
<i>L. fermentum</i> 1	78.55	3.53	25.67	5.52	40.59	0.953
<i>L. fermentum</i> 2	83.14	2.11	21.41	5.46	41.71	0.955
<i>L. plantarum</i>	84.29	1.42	20.71	5	49.93	0.959
Mezcla de BAL	83.16	2.14	21.16	5.05	53.73	0.955

### 8.16 Biotransformación de LA en CLA de BAL seleccionadas en la matriz de Tejuino (Tejuino sin fermentar)

Los resultados de la biotransformación de LA en CLA muestran que no todas las muestras biotransformaron el CLA y las que lo hicieron fueron la *L. pantheris* y la mezcla de las BAL,

pero en cantidades más pequeñas comparadas con la biotransformación de CLA en el medio MRS que realizó la *L. pantheris*.

De acuerdo al análisis estadístico se muestra que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las muestras con respecto a la biotransformación de CLA.

Tabla 25. Capacidad de Biotransformación de LA en CLA en la matriz de Tejuino.

Muestra	CLA	CLA
	( <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11) (mg/L)	( <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12) (mg/L)
Matriz Tejuino /LA	0	0
<i>L. pantheris</i>	1.89	1.17
<i>L. fermentum</i>	0	0
<i>L. plantarum</i>	0	0
Mezcla de BAL	0.76	0.92
Inóculo	0	0.17

### 8.17 Análisis microbiológico en matriz de Tejuino

En la Tabla 26 podemos apreciar que sí hubo crecimiento en la matriz de Tejuino en las muestras después de la incubación a 37°C/24h, pero no crecieron como en el medio de cultivo ya que sólo alcanzaron un crecimiento de 6 a 7 Log. UFC/mL.

Tabla 26. Crecimiento de BAL nativas de Tejuino en matriz (Tejuino sin fermentar).

Muestra	Crecimiento BAL (UFC/g)
Matriz Tejuino /LA	<10
<i>L. pantheris</i>	8.00E <sup>+06</sup>
<i>L. fermentum</i>	1.30E <sup>+07</sup>
<i>L. plantarum</i>	7.80E <sup>+07</sup>
Mezcla de BAL	2.50E <sup>+07</sup>
Inóculo	1.35E <sup>+07</sup>



## 8.18 Composición fisicoquímica de la matriz de Tejuino.

Los resultados obtenidos de las BAL nativas de Tejuino en la matriz de Tejuino se analizó que el pH y los °Brix con respecto a las muestras (Tabla 27), se observa que existe una diferencia estadísticamente significativa con el nivel de confianza del 95.0%.

Los resultados muestran que el pH tiene un rango de 3.55 a 5.59, los °Brix presentan valores de 22.32 a 23.42 y por último los rangos de color el parámetro L: entre 35.32 y 41.59, el parámetro a\* 1.49 a 2.33 y el parámetro b\* 22.7 a 25.4, comparando estos resultados con la caracterización del producto comercial observamos que se encuentran en rangos similares.

Tabla 27. Composición fisicoquímica de matriz de Tejuino.

Muestra	COLOR			PH	°Brix
	L*	a*	b*		
Matriz Tejuino /LA	35.02	1.83	22.79	5.59	23
<i>L. pantheris</i>	41.11	2.33	24.61	3.55	22.35
<i>L. fermentum</i>	39.82	1.56	24.71	4.09	22.32
<i>L. plantarum</i>	41.09	1.61	24.94	3.51	22.55
Mezcla de BAL	41.59	1.49	24.5	3.67	22.45
Inóculo	41.32	2.01	25.45	4.53	23.42

## 8.19 Biotransformación de LA en CLA de BAL seleccionadas en la matriz Pulque (Aguamiel)

Los resultados de acuerdo a la biotransformación el AL en CLA en la matriz de Pulque muestran que todas las muestras fueron capaces de llevar a cabo la biotransformación de CLA.

La muestra que presentó una mayor biotransformación fue la de Inóculo, las que tienen una menor biotransformación que la anterior son la muestra de la Mezcla de BAL, la BAL *L. pantheris* y la BAL *L. fermentum*1. Continuaron la *L. fermentum* 2 y la *L. brevis*, la que tuvo una menor biotransformación fue la *L. plantarum*.

De acuerdo al análisis estadístico se muestra que existe una diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95.0% entre las muestras con respecto a la biotransformación de CLA.

Tabla 28. Biotransformación de LA en CLA en la matriz de Pulque (Aguamiel).

Muestra	CLA	CLA
	( <i>cis-9, trans-11</i> ) (mg/L)	( <i>trans-10, cis-12</i> ) (mg/L)
Aguamiel /LA	0	0
<i>L. brevis</i>	1.16	0.73
<i>L. plantarum.</i>	0.56	0
<i>L. fermentum</i> 1	2.4	0.76
<i>L.fermentum</i> 2	1.38	0.8
<i>L. pantheris</i>	3	1.37
Mezcla de BAL	3.9	2.31
Inóculo	5.52	2.19

## 8.20 Análisis microbiológico en matriz de Pulque

Como resultado del análisis microbiológico en la matriz de Pulque podemos observar que las muestras de BAL tiene un crecimiento de 7 y 8 Log. UFC/mL, estos datos son similares a los mostrados durante el crecimiento en el medio de cultivo MRS (Tabla 29).

Tabla 29. Crecimiento de BAL nativas de pulque en matriz (aguamiel).

Muestra	Crecimiento BAL (UFC/ML)
Aguamiel /LA	<10
<i>L. brevis</i>	6.40E <sup>+07</sup>
<i>L. plantarum.</i>	2.00E <sup>+07</sup>
<i>L. fermentum</i> 1	1.10E <sup>+08</sup>
<i>L.fermentum</i> 2	1.30E <sup>+08</sup>
<i>L. pantheris</i>	7.10E <sup>+07</sup>
Mezcla de BAL	1.10E <sup>+08</sup>
Inóculo	3.40E <sup>+05</sup>

## 8.21 Composición fisicoquímica de matriz de Pulque (Aguamiel).

En el experimento de BAL nativas de Pulque en la matriz Aguamiel se analizó que el pH y los °Brix con respecto a las muestras Tabla 34, donde se muestra que existe una diferencia estadísticamente significativa con el nivel de confianza del 95.0%, de acuerdo al análisis estadístico de ANOVA por el programa de Statgraphics.

En la Tabla 30 podemos observar la composición fisicoquímica en la matriz de Pulque, donde los rangos de pH son de 3.86 a 4.29 y los °Brix son de 6.75 a 9.6, por último los rangos de color del parámetro L: entre 36 a 37.5, el parámetro a\* de -1.3 a 2 y el parámetro b\* 8.6 a 10.8; para esta matriz comparándola con el producto comercial encontramos que el pH y los °Brix se encuentran en rangos similares, pero con los resultados correspondientes a color observamos que existen diferencias, esto pudo deberse a los tratamientos a los cuales sometimos la matriz que pudieron darnos esta diferencia.

Tabla 30. Composición fisicoquímica de matriz de Pulque (Aguamiel).

Muestra	COLOR			PH	°Brix
	L*	a*	b*		
Aguamiel /LA	29.2	-0.8	7.8	6.76	9.65
<i>L. brevis</i>	36.5	-1.8	9.9	4.29	9.17
<i>L. plantarum.</i>	36.0	-1.3	9.2	3.63	9.15
<i>L. fermentum</i> 1	36.6	-1.8	9.8	3.74	8.80
<i>L. fermentum</i> 2	36.0	-2.1	9.5	3.76	8.70
<i>L. pantheris</i>	37.5	-1.8	10.8	3.80	9.63
Mezcla de BAL	38.5	-1.8	10.6	3.76	8.93
Inóculo	31.6	-2.0	8.6	3.89	6.75

Como resultados podemos observar que trabajar con matrices de productos es complejo, ya que las BAL nativas seleccionadas al volver a su matriz de origen no todas logran llevar a cabo la biotransformación de LA a CLA y las que lo realizan es en cantidades menores

comparadas con la biotransformación que realizaron en el medio MRS. Esto puede atribuirse a que prefieren gastar menos energía y se les facilita sintetizar más los compuestos de origen. En estudios anteriores se trabajó con leches fermentadas y carne de cerdo magra con *L. Kasei* donde esta BAL que ya se había comprobado su biotransformación en medio MRS no la llevó a cabo en ninguno de los dos productos. Los autores consideran que es debido a que el pH y la temperatura tienen que ver con que la BAL no llevara a cabo la biotransformación (Gorissen *et al.* 2012), en otro estudio con dos especies de BAL *L. plantarum* en sucuk (embutido seco fermentado), se concluyó que *L. plantarum* AB20-961 se puede utilizar para mejorar el contenido de CLA en las primeras etapas de la fermentación, sin efectos adversos sobre las características de calidad del producto final, por otro lado, la segunda sólo lo logró durante las primeras 24 horas y al final del estudio se concluye que *L. plantarum* AA1-2 no fue capaz de producir CLA en la fermentación sucuk (Ozer *et al.* 2016).

En el estudio se muestreó el inóculo de Tejuino y Pulque que contiene toda la carga microbiana del producto de origen y se observa que en ambos productos se produjo la biotransformación de LA en CLA. En la muestra de la mezcla de BAL se mostró en los resultados llevar a cabo la biotransformación de LA en CLA.

## **Conclusiones**

---

## **Perspectivas**

---

## 9. Conclusiones

- Se caracterizó el perfil lipídico de dos de los productos Queso Adobera y Tejuino encontrando dentro de su perfil ácidos grasos que son esenciales para el humano como el linoleico, linolénico y oleico para ambos productos; el ácido eicosanoico estuvo presente en el Tejuino, en Queso Adobera se encontró el araquidónico y el isómero de CLA (*cis-9, trans-11*).
- Se logró identificar la capacidad biotransformadora, de bacterias ácido lácticas nativas de tres productos artesanales (Queso Adobera, Tejuino y Pulque) para convertir ácido linoleico en ácido linoleico conjugado.
- En medio de cultivo MRS se llevó a cabo la biotransformación de LA a CLA de las bacterias *L. plantarum* y *L. brevis*.
- Se estudió la biotransformación de LA a CLA a partir de *L. fermentum* y *L. pantheris*, para las cuales no se había estudiado su capacidad de biotransformación de los isómeros de CLA.
- En la matriz de Queso Adobera (Cuajada) no se logró la biotransformación en las muestras de los isómeros de CLA.
- En la matriz de Tejuino se logró la biotransformación de los isómeros de CLA de las muestras *L. pantheris*, la Mezcla de BAL y el Inoculo.
- En la matriz de Pulque se logró una biotransformación en todas las muestras para convertir LA en CLA.

## 10. Perspectivas

- Es necesario realizar más estudios tomando en cuenta la estequiometría de la biotransformación de LA en CLA.
- Es necesario saber si la enzima alfa-enolasa se encuentra presente en las BAL nativas de los tres productos artesanales.
- Se necesita más investigación para determinar las condiciones óptimas de las BAL para lograr un aumento de los niveles de biotransformación de CLA, tanto en medios de cultivo como en matrices de productos.
- Es necesario conocer si la composición natural de las matrices de cada producto es alterada por la incorporación del ácido linoleico y como consecuencia sea un producto no deseable.

## 11. Bibliografía

---



## Bibliografía

- Ando, A., OgaWa, J., Kishino, S., & Shimizu, S. (2004). Conjugated linoleic acid production from castor oil by *Lactobacillus plantarum* JCM 1551. *Enzyme and Microbial Technology*, 35(1), 40-45.
- Andrade, J. C., Ascencao, K., Gullon, P., Henriques, S., Pinto, J., ROCHA-SANTOS, T. A., ... & GOMES, A. (2012). Production of conjugated linoleic acid by food-grade bacteria: A review. *International journal of dairy technology*, 65(4), 467-481.
- AOAC 978.18-1978. AOAC, Method 978.18D Preparation of Reference Salt Slushes. 1995. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 16th Ed. AOAC International, Arlington VA.
- Feitoza, A. B., Pereira, A. F., da Costa, N. F., & Ribeiro, B. G. (2009). Conjugated linoleic acid (CLA): effect modulation of body composition and lipid profile. *Nutr Hosp*, 24(4), 422-428.
- Yang, B., Chen, H., Stanton, C., Ross, R. P., Zhang, H., Chen, Y. Q., & Chen, W. (2015). Review of the roles of conjugated linoleic acid in health and disease. *Journal of Functional Foods*, 15, 314-325.
- Campos Mendiola R. (2002). Obtención de una bebida funcional de bifidobacterias utilizando aguamiel como base. Tesis Maestría. E.N.C.B., I.P.N.
- Chang, J. H., Lunt, D. K., & Smith, S. B. (1992). Fatty acid composition and fatty acid elongase and stearoyl-CoA desaturase activities in tissues of steers fed high oleate sunflower seed. *Journal Of Nutrition-Baltimore And Springfield Then Bethesda*, 122, 2074-2074.
- Churruca, I., Fernández-Quintela, A., & Portillo, M. P. (2009). Conjugated linoleic acid isomers: differences in metabolism and biological effects. *Biofactors*, 35(1), 105-111.
- Coakley, M., Ross, R. P., Nordgren, M., Fitzgerald, G., Devery, R., & Stanton, C. (2003). Conjugated linoleic acid biosynthesis by human-derived Bifidobacterium species. *Journal of Applied Microbiology*, 94(1), 138-145.
- Colín, D. S. M., Padilla, D. P. R., Hurle, L. P., García, F. I. S., & Brito, R. S. (2012). Análisis bromatológico y aislamiento de microorganismos con potencial probiótico del pulque. *Investigación Universitaria Multidisciplinaria: Revista de Investigación de la Universidad Simón Bolívar*, (11), 115-122.

- Coronado H. M., Vega, S., León, R. G. T., Fernández, B. G., & González, G. D. (2006). Los ácidos grasos omega-3 y omega-6: nutrición, bioquímica y salud. *Revista de Educación Bioquímica*, 25(3), 72-79.
- Escamilla, M., y Escamilla, M.G., (2007) Los alimentos fermentados que comían nuestros abuelos. *En ciencia. Revista de la Academia Mexicana de la Ciencia*. 58 (2):75-84.
- Escalante, A., Soto, D. R. L., Gutiérrez, J. E. V., Giles-Gómez, M., Bolívar, F., & López-Munguía, A. (2016). Pulque, a Traditional Mexican Alcoholic Fermented Beverage: Historical, Microbiological, and Technical Aspects. *Frontiers in Microbiology*, 7.
- Escalante, A., Rodríguez, M. E., Martínez, A., López-Munguía, A., Bolívar, F., & Gosset, G. (2004). Characterization of bacterial diversity in Pulque, a traditional Mexican alcoholic fermented beverage, as determined by 16S rDNA analysis. *FEMS microbiology letters*, 235(2), 273-279.
- Flores, S. G., Pacheco, J. R. S., Miranda, A. C., Reyes, M. T., Blanco, M. E. G., y Uscanga, B. R. A. (2009). Aislamiento e identificación de microorganismos nativos en la fermentación de tejuino artesanal.
- González-Vázquez, R., Azaola-Espinosa, A., Mayorga-Reyes, L., Reyes-Nava, L. A., Shah, N. P., & Rivera-Espinoza, Y. (2015). Isolation, Identification and Partial Characterization of a *Lactobacillus casei* Strain with Bile Salt Hydrolase Activity from Pulque. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 7(4), 242-248.
- Gorissen, L., De Vuyst, L., Raes, K., De Smet, S., & Leroy, F. (2012). Conjugated linoleic and linolenic acid production kinetics by bifidobacteria differ among strains. *International journal of food microbiology*, 155(3), 234-240.
- Gorissen, L., Raes, K., De Smet, S., De Vuyst, L., & Leroy, F. (2012). Microbial production of conjugated linoleic and linolenic acids in fermented foods: Technological bottlenecks. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(4), 486-491.
- Gorissen, L., Weckx, S., Vlaeminck, B., Raes, K., De Vuyst, L., De Smet, S., & Leroy, F. (2011). Linoleate isomerase activity occurs in lactic acid bacteria strains and is affected by pH and temperature. *Journal of applied microbiology*, 111(3), 593-606.
- Hennessy, A. A., Ross, R. P., Devery, R., & Stanton, C. (2009). Optimization of a reconstituted skim milk based medium for enhanced CLA production by bifidobacteria. *Journal of applied microbiology*, 106(4), 1315-1327.
- Hernandez-Mendoza, A., Lopez-Hernandez, A., Hill, C. G., & Garcia, H. S. (2009). Bioconversion of linoleic acid to conjugated linoleic acid by *Lactobacillus reuteri* under

different growth conditions. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 84(2), 180-185.

- Hugenholtz, J. (2008). Review. The lactic acid bacterium as a cell Factory for food ingredient production. *International Dairy Journal*. Vol.18: Pág. 466-475.
- Hou, J., Liu, Y., Wang, Y., Xiao, Z., Liu, F., Yu, W., & Xu, J. (2011). Promoting the production of conjugated linoleic acid by optimizing the fermentation parameters of *Lactobacillus* sp. *Milchwissenschaft*, 66(4), 368-371.
- Kim, J. H., Kim, Y., Kim, Y. J., & Park, Y. (2016). Conjugated linoleic acid: potential health benefits as a functional food ingredient. *Annual review of food science and technology*, 7, 221-244.
- Kishino, S., OgaWa, J., Ando, A., Iwashita, T., Fujita, T., KaWashima, H., & Shimizu, S. (2003). Structural analysis of conjugated linoleic acid produced by *Lactobacillus plantarum*, and factors affecting isomer production. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 67(1), 179-182.
- Kishino, S., OgaWa, J., Ando, A., Omura, Y., & Shimizu, S. (2002). Ricinoleic acid and castor oil as substrates for conjugated linoleic acid production by washed cells of *Lactobacillus plantarum*. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 66(10), 2283-2286.
- Kong-González, M., Pérez-Cortéz, J. G., Hernández-Girón, C., Macías-Morales, N., & Flores-Aldana, M. (2014). Polyunsaturated fatty acids for multiple sclerosis treatment: scientific evidence. *Medwave*, 15(1), e6062-e6062.
- León Sánchez Jose, Salgado-Cruz María de la Paz, Sánchez Mundo María de la Luz y Cortés Sánchez Alejandro de Jesús. (2014). Conjugated linoleic acid: from nature to biotechnological use. *Revista Cubana de Química*, Vol. 26. Num. 3: Pág. 235-258.
- Liu, P., Shen, S. R., Ruan, H., Zhou, Q., Ma, L. L., & He, G. Q. (2011). Production of conjugated linoleic acids by *Lactobacillus plantarum* strains isolated from naturally fermented Chinese pickles. *Journal of Zhejiang University Science B*, 12(11), 923.
- Lorenzo Monterrubio A.( 2007). El maguey y el pulque en Méxcio, en *Las Haciendas Pulqueras de México* (México: UNAM, Coordinación de Estudios de Posgrado, Programa de Posgrado en Arquitectura); Pag.41–63.
- Malinska, H., Hüttl, M., Oliyarnyk, O., Bratova, M., & Kazdova, L. (2015). Conjugated linoleic acid reduces visceral and ectopic lipid accumulation and insulin resistance in chronic severe hypertriacylglycerolemia. *Nutrition*, 31(7), 1045-1051.
- NMX-F-317-S-1978. Determinación de pH en alimentos.
- NMX-F-089-S-1978. Determinación de extracto etéreo (método soxhlet) en alimentos.

- NMX-F-103-1982. Alimentos. Frutas y derivados. Determinación de grados brix.
- NMX-F-428-1982. Alimentos. Determinación de humedad (método rápido de la termobalanza).
- NMX-F-102-NORMEX-2010 Alimentos-determinación de Ácido titulable en alimentos- método de ensayo (prueba).
- NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias.
- NMX-F-017-SCFI-2011 ALIMENTOS – Aceites Y Grasas - Determinación de la Composición de Ácidos Grasos por Cromatografía de Gases en Columna Empacada – Método de Prueba.
- OgaWa, J., Kishino, S., Ando, A., Sugimoto, S., Mihara, K., & Shimizu, S. (2005). Production of conjugated fatty acids by lactic acid bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100(4), 355-364.
- OgaWa, J., Matsumura, K., Kishino, S., Omura, Y., & Shimizu, S. (2001). Conjugated linoleic acid accumulation via 10-hydroxy-12-octadecanoic acid during microaerobic transformation of linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus*. *Applied and environmental microbiology*, 67(3), 1246-1252.
- Olivares-Illana, V., Wachter-Rodarte, C., Le Borgne, S., & López-Munguía, A. (2002). Characterization of a cell-associated inulosucrase from a novel source: A *Leuconostoc citreum* strain isolated from Pozol, a fermented corn beverage of Mayan origin. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 28(2), 112-117.
- Özer, C. O., Kılıç, B., & Kılıç, G. B. (2016). In-vitro microbial production of conjugated linoleic acid by probiotic *L. plantarum* strains: Utilization as a functional starter culture in sucuk fermentation. *Meat science*, 114, 24-31.
- Ortiz-Basurto, R. I., Pourcelly, G., Doco, T., Williams, P., Dornier, M., & Belleville, M. P. (2008). Analysis of the main components of the aguamiel produced by the maguey-pulquero (*Agave mapisaga*) throughout the harvest period. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(10), 3682-3687.
- Park, Y., & Pariza, M. W. (2007). Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoleic acid (CLA). *Food Research International*, 40(3), 311-323.
- Pariza, M. W., & Hargraves, W. A. (1985). A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene. *Carcinogenesis*, 6(4), 591-593.

- PARRA HUERTAS, R. A. (2010). Review lactic acid bacteria: functional role in the foods. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 8(1), 93-105.
- Peña-Alvarez, A., Díaz, L., Medina, A., Labastida, C., Capella, S., & Vera, L. E. (2004). Characterization of three Agave species by gas chromatography and solid-phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1027(1), 131-136.
- Pelayo Arreola I. M., Méndez Robles M. D., Villanueva Rodríguez S. J., Villagran de la Mora B. Z. 2012. Identificación de Ácidos Grasos Volátiles producidos por Bacterias Ácido Lácticas, asociadas al aroma en una marca de queso adobera elaborado de manera artesanal. Tesis. Universidad de Guadalajara, Centro universitario de los Altos.
- Puniya, A. K., Chaitanya, S., Tyagi, A. K., De, S., & Singh, K. (2008). Conjugated linoleic acid producing potential of lactobacilli isolated from the rumen of cattle. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 35(11), 1223-1228.
- Rocha Uribe, A. y Hernández, E. (2004). Synthesis Of Linoleic Conjugated Acid By Alkali Isomerization Using Propylene Glycol As Solvent. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 3(2).193-200.
- Rodríguez-Alcalá, L. M., Braga, T., Malcata, F. X., Gomes, A., & Fontecha, J. (2011). Quantitative and qualitative determination of CLA produced by *Bifidobacterium* and lactic acid bacteria by combining spectrophotometric and Ag+-HPLC techniques. *Food Chemistry*, 125(4), 1373-1378.
- Roman-Nunez, M., Cuesta-Alonso, E. P., & Gilliland, S. E. (2007). Influence of sodium glycocholate on production of conjugated linoleic acid by cells of *Lactobacillus reuteri* ATCC 55739. *Journal of food science*, 72(4), M140-M143.
- Ronayne de Ferrer P. A. (2000). Importancia de los ácidos grasos poliinsaturados en la alimentación del lactante. *Arch. argent. pediatr*, 98(4), 231.
- Savadogo, A., Ouattara, A. C., Bassole, H. I., & Traore, S. A. (2006). Bacteriocins and lactic acid bacteria-a minireview. *African Journal of Biotechnology*, 5(9).
- Song, Y. S., Kang, S. W., Oh, D. K., Rho, Y. T., Hong, S. I., & Kim, S. W. (2005). Bioconversion of linoleic acid to conjugated linoleic acid by *Bifidobacterium breve*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 10(4), 357-361.
- Sosa C. S., Hernández M. A., González C. A. F., Vallejo C. B. (2014). Producción de Ácido Linoleico Conjugado (ALC) por Bacterias Ácido Lácticas (BAL) y su efecto benéfico para la salud. *Interciencia*, 39(8), 540-546.

- Torres M. E., Lenoir M., Mayorga R. L., Allain T., Sokol H., Langella P., Bolívar F., Escalante A. (2016). Identification of novel anti-inflammatory probiotic strains isolated from pulque. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(1), 385-396.
- Ulloa, M., Herrera, T., & Lappe, P. (1987). Fermentaciones tradicionales indígenas de México (No. 16). Instituto Nacional Indigenista.
- Vargas, L., (1999). "Bebidas Mexicanas". En cuaderno de Nutrición 22 (3): 117-124.
- Van Nieuwenhove, C. P., Oliszewski, R., González, S. N., & Perez Chaia, A. B. (2007). Conjugated linoleic acid conversion by dairy bacteria cultured in MRS broth and buffalo milk. *Letters in applied microbiology*, 44(5), 467-474.
- Villegas de Gante, A. (1993). Los Quesos Mexicanos. Universidad Autónoma Chapingo. CIESTAAM. Págs. 251
- Willians W, Dosson CG, and Gunstone, F. (1997). Isomers in commercial samples of conjugated linoleic acid. *Lipids*, 32(11), 1231-1231.
- Wachter-Rodarte, C. (1993). Alimentos y bebidas fermentados tradicionales. *Biotecnología alimentaria*, 312-349.
- Wang, L. M., Lv, J. P., Chu, Z. Q., Cui, Y. Y., & Ren, X. H. (2007). Production of conjugated linoleic acid by *Propionibacterium freudenreichii*. *Food Chemistry*, 103(2), 313-318.
- Zeng, Z., Lin, J., & Gong, D. (2009). Identification of Lactic Acid Bacterial Strains with High Conjugated Linoleic Acid-Producing Ability from Natural Sauerkraut Fermentations. *Journal of food science*, 74(4), M154-M158.
- Zhao, H. W., Lv, J. P., & Li, S. R. (2011). Production of conjugated linoleic acid by whole-cell of *Lactobacillus plantarum* A6-1F. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 25(1), 2266-2272.




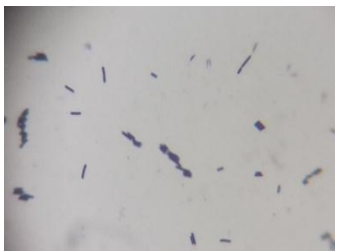
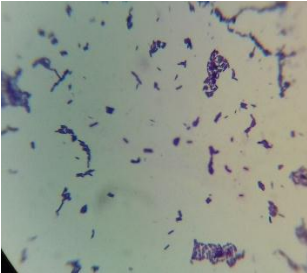
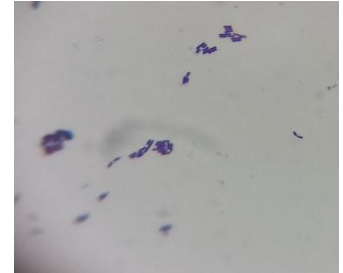


## **12. Anexos**

---

## Anexo 1

### Tinción de Gram

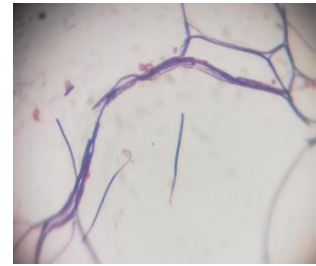
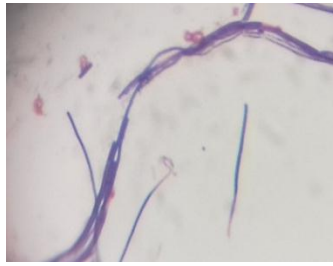
Tinción de Gram de BAL nativas de Queso Adobera, Tejuino y Pulque.

Muestra	Bacteria		
QA-01	<i>Lactobacillus plantarum</i>		
QA-02	<i>Lactobacillus plantarum</i>		
QA-03	<i>Lactobacillus plantarum</i>		
QA-04	<i>Lactobacillus fermentum</i>		

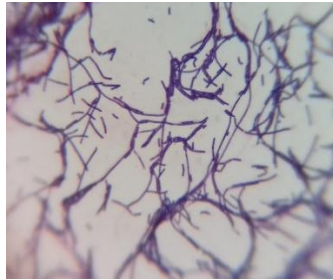


---

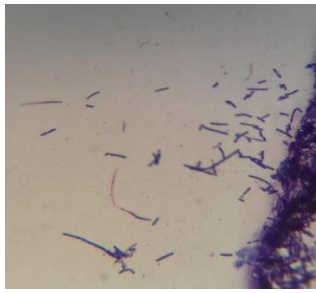
QA-05 *Lactobacillus fermentum*



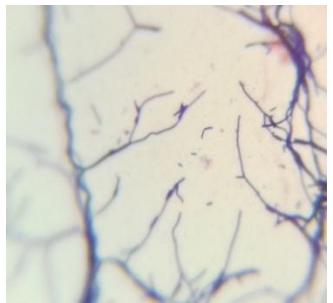
QA-06 *Lactobacillus fermentum*



QA-07 *Lactobacillus fermentum*

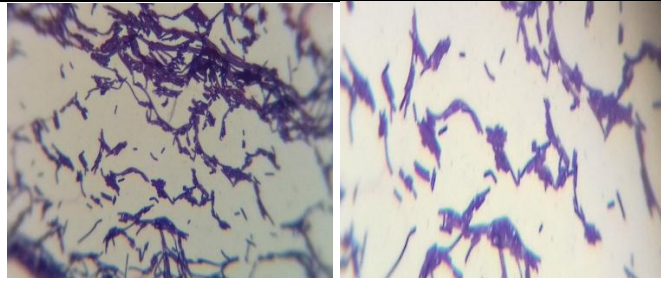


QA-08 *Lactobacillus fermentum*

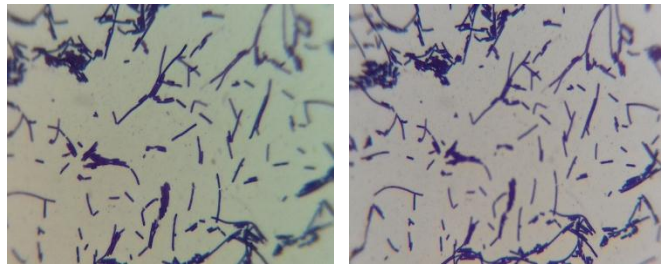


---

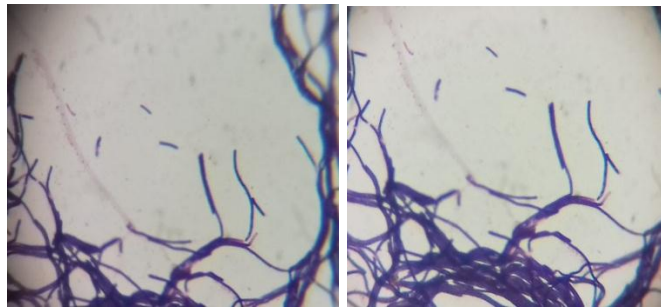
QA-09 *Lactobacillus fermentum*



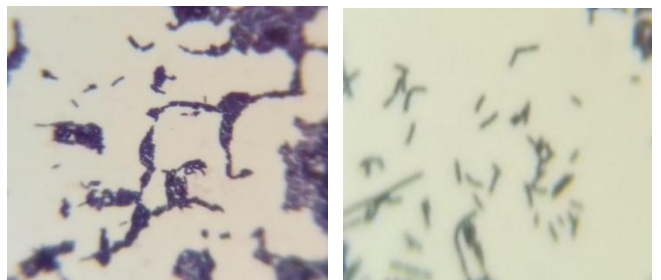
QA-10 *Lactobacillus fermentum*

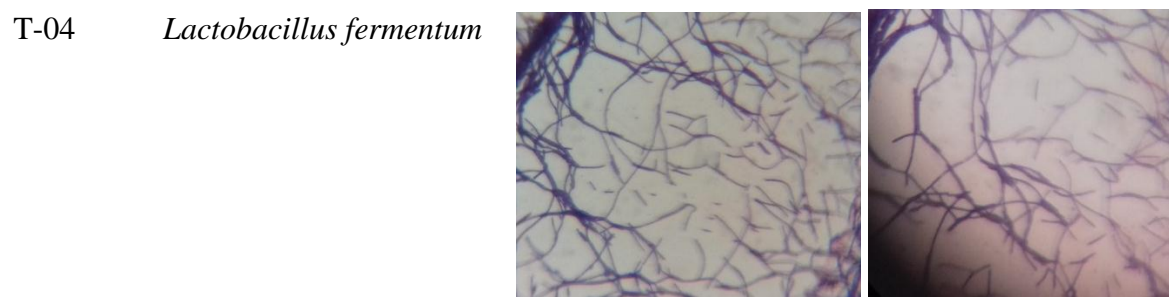
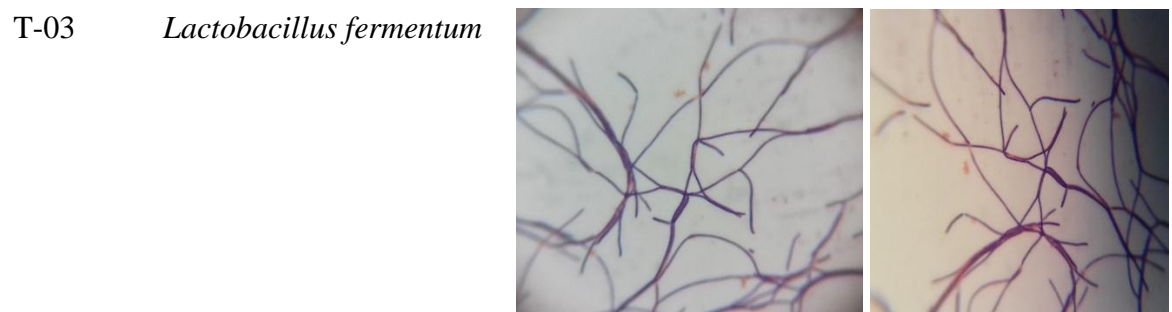
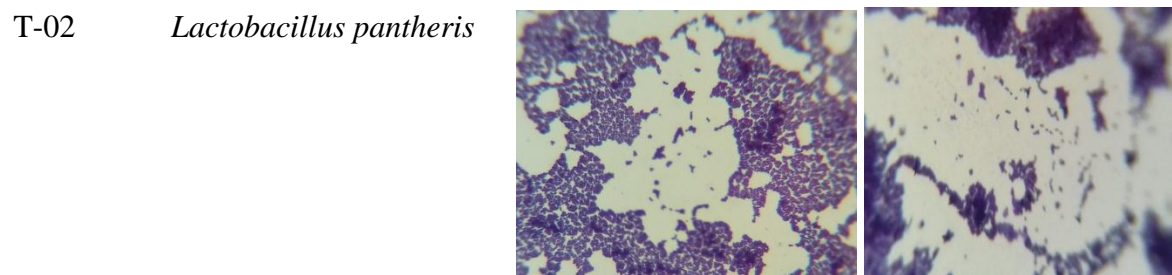
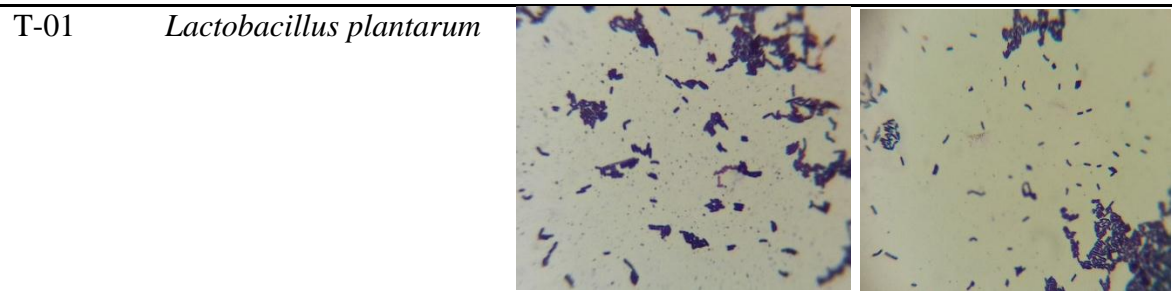


QA-11 *Lactobacillus fermentum*



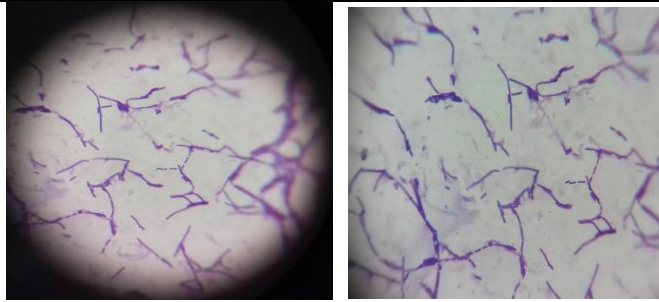
QA-12 *Lactobacillus plantarum*



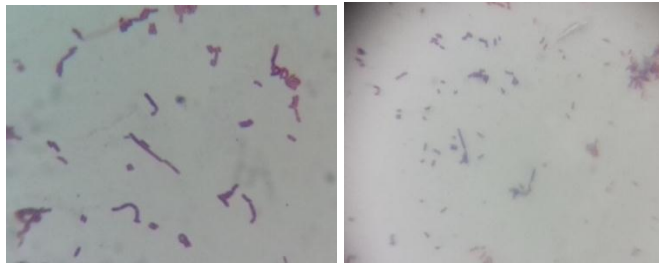


---

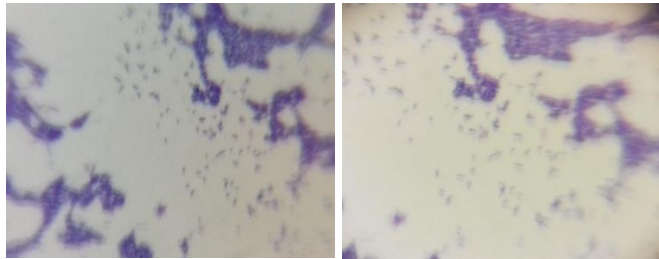
T-05      *Lactobacillus fermentum*



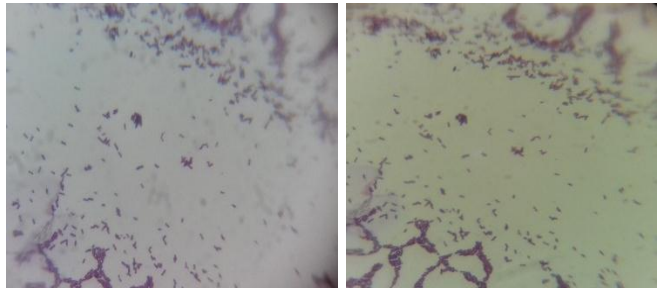
T-06      *Lactobacillus plantarum*



T-07      *Lactobacillus plantarum*

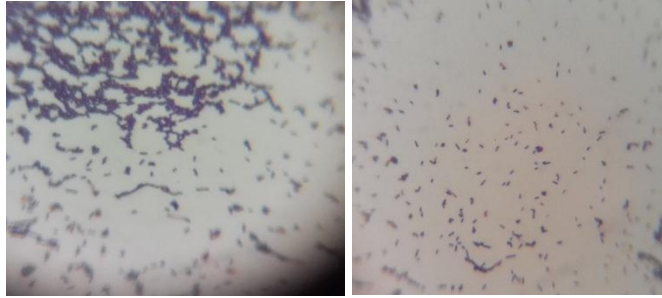


T-08      *Lactobacillus plantarum*

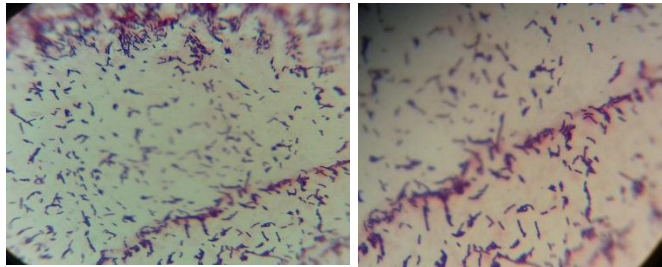


---

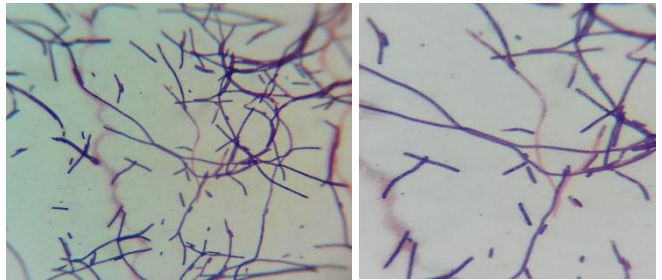
P-01      *Lactobacillus brevis*



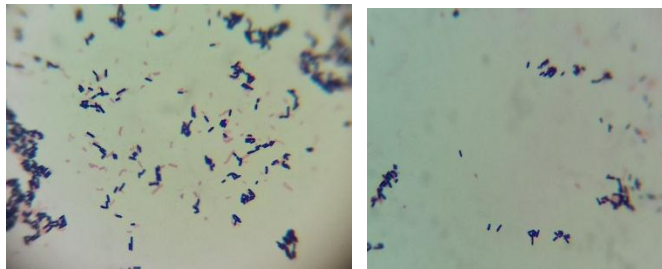
P-02      *Lactobacillus fermentum*



P-03      *Lactobacillus fermentum*

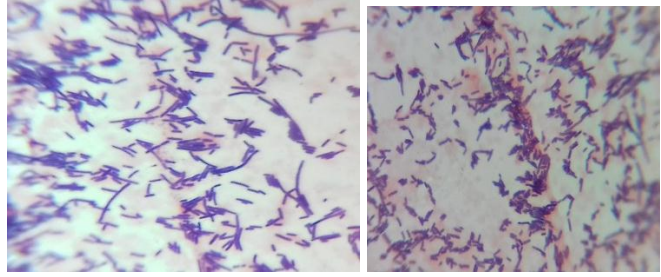


P-04      *Lactobacillus plantarum*

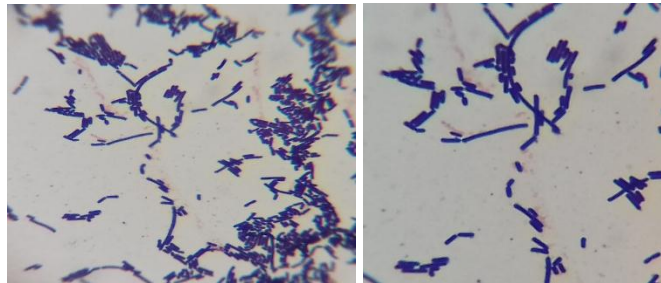


---

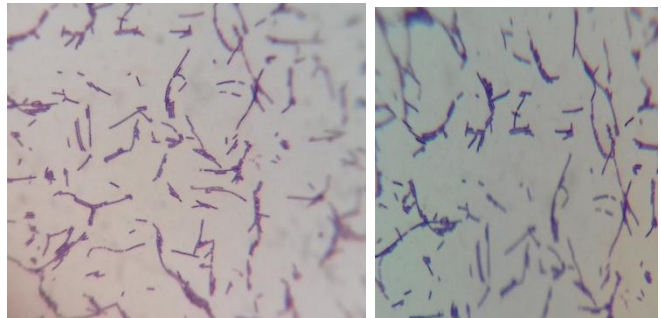
P-05      *Lactobacillus fermentum*



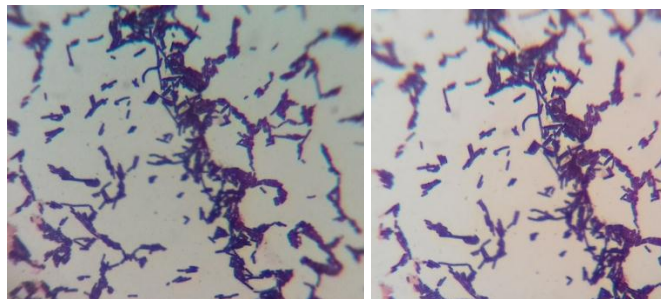
P-06      *Lactobacillus fermentum*



P-07      *Lactobacillus fermentum*

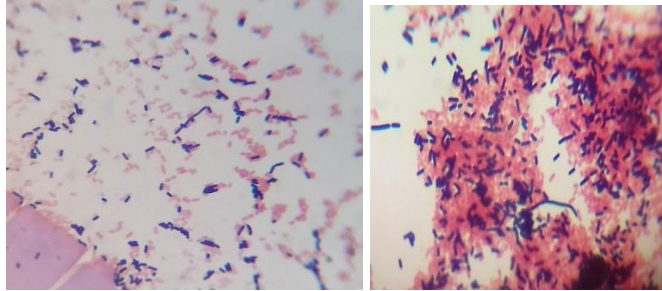


P-08      *Lactobacillus fermentum*

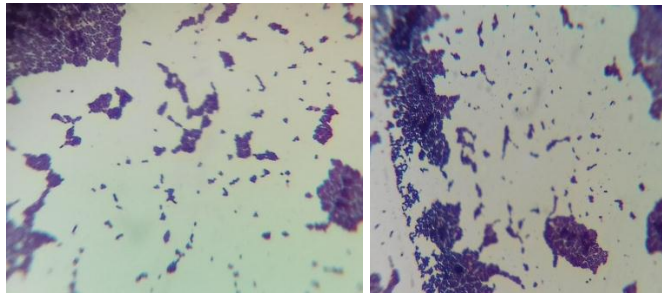


---

P-09      *Lactobacillus plantarum*



P-10      *Lactobacillus pantheris*



## Anexo 2

### Identificación de BAL en el equipo Microflex LT MALDI-TOF MS

## Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



### Project Info:

Project Name: **BAL QTP**  
Project Description:  
Project Owner: **usuario@FLEX-PC**  
Project Creation Date/Time: **2016-04-13T10:52:58.382**  
Project Analyte Count: **71**  
Project Type: **Development**  
Validation: **passed**  
Validation Position: **A1:0**

### Result Overview

Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
<u>A1</u> (-)(C)	BTS	<b>no peaks found</b>	<u>&lt;0</u>	<b>no peaks found</b>	<u>&lt;0</u>
<u>B1</u> (++)(A)	QA-01	Lactobacillus plantarum	<u>2.261</u>	Lactobacillus plantarum	<u>2.175</u>
<u>B2</u> (++)(A)	QA-01	Lactobacillus plantarum	<u>2.273</u>	Lactobacillus plantarum	<u>2.15</u>
<u>B3</u> (++)(A)	QA-02	Lactobacillus plantarum	<u>2.178</u>	Lactobacillus plantarum	<u>1.971</u>
<u>B4</u> (++)(A)	QA-02	Lactobacillus plantarum	<u>2.114</u>	Lactobacillus plantarum	<u>1.959</u>
<u>B5</u> (++)(A)	QA-03	Lactobacillus plantarum	<u>2.274</u>	Lactobacillus plantarum	<u>2.162</u>
<u>B6</u> (++)(A)	QA-03	Lactobacillus plantarum	<u>2.25</u>	Lactobacillus plantarum	<u>2.195</u>



<u>B7</u> (-)(C)	QA-04	no peaks found	< 0	no peaks found	< 0
<u>B8</u> (+)(A)	QA-04	Lactobacillus fermentum	<u>2.074</u>	Lactobacillus fermentum	<u>2.007</u>
<u>B9</u> (-)(C)	QA-05	no peaks found	< 0	no peaks found	< 0
<u>B10</u> (+)(A)	QA-05	Lactobacillus fermentum	<u>2.097</u>	Lactobacillus fermentum	<u>2.048</u>
<u>B11</u> (+)(A)	QA-06	Lactobacillus fermentum	<u>2.058</u>	Lactobacillus fermentum	<u>1.88</u>
<u>B12</u> (+)(A)	QA-06	Lactobacillus fermentum	<u>2.018</u>	Lactobacillus fermentum	<u>1.919</u>
<u>C1</u> (-)(C)	QA-07	no peaks found	< 0	no peaks found	< 0
<u>C2</u> (+)(B)	QA-07	Lactobacillus fermentum	<u>1.968</u>	Lactobacillus fermentum	<u>1.957</u>
<u>C3</u> (-)(C)	QA-08	no peaks found	< 0	no peaks found	< 0
<u>C4</u> (+)(A)	QA-08	Lactobacillus fermentum	<u>2.086</u>	Lactobacillus fermentum	<u>2.005</u>
<u>C5</u> (-)(C)	QA-09	no peaks found	< 0	no peaks found	< 0
<u>C6</u> (-)(C)	QA-09	no peaks found	< 0	no peaks found	< 0
<u>C7</u> (+)(A)	QA-10	Lactobacillus fermentum	<u>2.045</u>	Lactobacillus fermentum	<u>1.886</u>
<u>C8</u> (+)(B)	QA-10	Lactobacillus fermentum	<u>1.882</u>	Lactobacillus fermentum	<u>1.881</u>
<u>C9</u> (+)(A)	QA-11	Lactobacillus fermentum	<u>2.048</u>	Lactobacillus fermentum	<u>1.892</u>
<u>C10</u> (+)(B)	QA-11	Lactobacillus fermentum	<u>1.93</u>	Lactobacillus fermentum	<u>1.818</u>
<u>C11</u> (+)(A)	QA-12	Lactobacillus plantarum	<u>2.297</u>	Lactobacillus plantarum	<u>2.241</u>
<u>C12</u> (+)(A)	QA-12	Lactobacillus plantarum	<u>2.26</u>	Lactobacillus plantarum	<u>2.21</u>
<u>D1</u> (-)(C)	T1	no peaks found	< 0	no peaks found	< 0

<u>D2</u> (++) (A)	T1	Lactobacillus plantarum	<u>2.224</u>	Lactobacillus plantarum	<u>2.21</u>
<u>D3</u> (-) (C)	T2	no peaks found	<0	no peaks found	<0
<u>D4</u> (-) (C)	T2	no peaks found	<0	no peaks found	<0
<u>D5</u> (-) (C)	T3	no peaks found	<0	no peaks found	<0
<u>D6</u> (+) (B)	T3	Lactobacillus fermentum	<u>1.817</u>	Lactobacillus fermentum	<u>1.732</u>
<u>D7</u> (-) (C)	T4	no peaks found	<0	no peaks found	<0
<u>D8</u> (+) (B)	T4	Lactobacillus fermentum	<u>1.906</u>	Lactobacillus fermentum	<u>1.829</u>
<u>D9</u> (-) (C)	T5	no peaks found	<0	no peaks found	<0
<u>D10</u> (+) (B)	T5	Lactobacillus fermentum	<u>1.959</u>	Lactobacillus fermentum	<u>1.933</u>
<u>D11</u> (-) (C)	T6	no peaks found	<0	no peaks found	<0
<u>D12</u> (++) (A)	T6	Lactobacillus plantarum	<u>2.241</u>	Lactobacillus plantarum	<u>2.174</u>
<u>E1</u> (+) (B)	T7	Lactobacillus plantarum	<u>1.782</u>	Lactobacillus plantarum	<u>1.76</u>
<u>E2</u> (+) (B)	T7	Lactobacillus plantarum	<u>1.784</u>	Lactobacillus plantarum	<u>1.723</u>
<u>E3</u> (+++)(A)	T8	Lactobacillus plantarum	<u>2.333</u>	Lactobacillus plantarum	<u>2.254</u>
<u>E4</u> (+++)(A)	T8	Lactobacillus plantarum	<u>2.396</u>	Lactobacillus plantarum	<u>2.331</u>
<u>E5</u> (++) (A)	P1	Lactobacillus brevis	<u>2.15</u>	Lactobacillus brevis	<u>2.143</u>
<u>E6</u> (++) (A)	P1	Lactobacillus brevis	<u>2.185</u>	Lactobacillus brevis	<u>2.107</u>
<u>E7</u> (+) (B)	P2	Lactobacillus fermentum	<u>1.951</u>	Lactobacillus fermentum	<u>1.93</u>
<u>E8</u> (++) (A)	P2	Lactobacillus fermentum	<u>2.064</u>	Lactobacillus fermentum	<u>1.95</u>

<u>E9</u> (+)(B)	P3	Lactobacillus fermentum	<u>1.971</u>	Lactobacillus fermentum	<u>1.916</u>
<u>E10</u> (++)(A)	P3	Lactobacillus fermentum	<u>2.079</u>	Lactobacillus fermentum	<u>2.079</u>
<u>E11</u> (-)(C)	P4	<b>no peaks found</b>	<u>&lt;0</u>	<b>no peaks found</b>	<u>&lt;0</u>
<u>E12</u> (++)(A)	P4	Lactobacillus plantarum	<u>2.299</u>	Lactobacillus plantarum	<u>2.234</u>
<u>F1</u> (++)(A)	P5	Lactobacillus fermentum	<u>2.033</u>	Lactobacillus fermentum	<u>1.945</u>
<u>F2</u> (++)(A)	P5	Lactobacillus fermentum	<u>2.077</u>	Lactobacillus fermentum	<u>2.053</u>
<u>F3</u> (++)(A)	P6	Lactobacillus fermentum	<u>2.255</u>	Lactobacillus fermentum	<u>2.079</u>
<u>F4</u> (++)(A)	P6	Lactobacillus fermentum	<u>2.204</u>	Lactobacillus fermentum	<u>2.016</u>
<u>F5</u> (++)(A)	P7	Lactobacillus fermentum	<u>2.057</u>	Lactobacillus fermentum	<u>2.026</u>
<u>F6</u> (++)(A)	P7	Lactobacillus fermentum	<u>2.092</u>	Lactobacillus fermentum	<u>2.05</u>
<u>F7</u> (++)(A)	P8	Lactobacillus fermentum	<u>2.138</u>	Lactobacillus fermentum	<u>2.006</u>
<u>F8</u> (++)(A)	P8	Lactobacillus fermentum	<u>2.067</u>	Lactobacillus fermentum	<u>1.982</u>
<u>F9</u> (-)(C)	P9	<b>no peaks found</b>	<u>&lt;0</u>	<b>no peaks found</b>	<u>&lt;0</u>
<u>F10</u> (-)(C)	P9	<b>no peaks found</b>	<u>&lt;0</u>	<b>no peaks found</b>	<u>&lt;0</u>
<u>F11</u> (-)(C)	P10	<b>no peaks found</b>	<u>&lt;0</u>	<b>no peaks found</b>	<u>&lt;0</u>
<u>F12</u> (+)(B)	P10	Lactobacillus pantheris	<u>1.975</u>	<b>not reliable identification</b>	<u>1.481</u>
<u>G1</u> (++)(A)	R1	Lactobacillus fermentum	<u>2.016</u>	Lactobacillus fermentum	<u>1.977</u>
<u>G2</u> (++)(A)	R1	Lactobacillus fermentum	<u>2.155</u>	Lactobacillus fermentum	<u>2.074</u>
<u>G3</u> (++)(A)	R2	Lactobacillus fermentum	<u>2.135</u>	Lactobacillus fermentum	<u>2.038</u>

### Result Overview

Analyte Name	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
<u>D3 I2 p55</u> (+)(B)	Lactobacillus pantheris	<u>1.726</u>	not reliable identification	<u>1.44</u>
<u>C5 QA09 p45</u> (+)(B)	Lactobacillus fermentum	<u>1.893</u>	Lactobacillus fermentum	<u>1.792</u>
<u>C6 QA09 p45</u> (++)(A)	Lactobacillus fermentum	<u>2.072</u>	Lactobacillus fermentum	<u>1.963</u>
<u>C6 QA09 p49</u> (++)(A)	Lactobacillus fermentum	<u>2.077</u>	Lactobacillus fermentum	<u>1.791</u>
<u>D4 I2 p50</u> (+)(B)	Lactobacillus pantheris	<u>1.861</u>	not reliable identification	<u>1.426</u>
<u>F10 P9 p44</u> (++)(A)	Lactobacillus plantarum	<u>2.177</u>	Lactobacillus plantarum	<u>2.103</u>
<u>F10 P9 p50</u> (++)(A)	Lactobacillus plantarum	<u>2.108</u>	Lactobacillus plantarum	<u>2.133</u>

file:///C:/Users/usuario/AppData/Roaming/Bruker%20Daltonik/MALDI Biotyper Automati... 4/13/2016

<u>F12 P16 p44</u> (+)(B)	Lactobacillus pantheris	<u>1.963</u>	not reliable identification	<u>1.351</u>
------------------------------	-------------------------	--------------	-----------------------------	--------------

### Meaning of Score Values

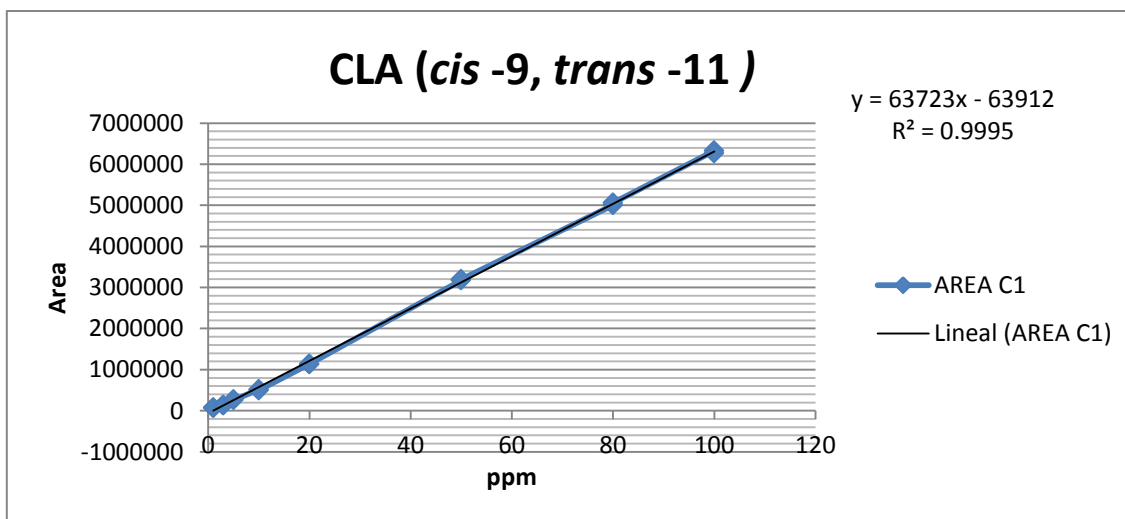
Range	Description	Symbols	Color
2.300 ... 3.000	highly probable species identification	(+++)	green
2.000 ... 2.299	secure genus identification, probable species identification	(++)	green
1.700 ... 1.999	probable genus identification	(+)	yellow
0.000 ... 1.699	not reliable identification	(-)	red

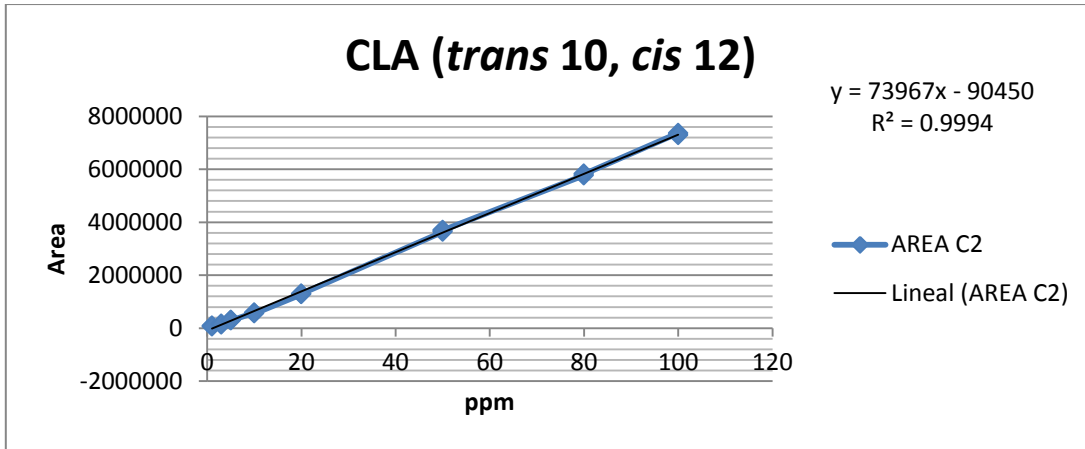
### Anexo 3

### Curvas para biotransformación en medio de cultivo MRS.

Curvas de biotransformación de CLA en medio de cultivo MRS

ppm	AREA de CLA ( <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 )	AREA de CLA ( <i>trans</i> 10, <i>cis</i> 12)
1	73655	86138
1	64095	60006
3	135159	161313
3	133168	140718
5	271125	308722
5	261275	291148
10	518290	585582
10	497972	558281
20	1137201	1277933
20	1135410	1297349
50	3174139	3637104
50	3199522	3695823
80	5004017	5771029
80	5061202	5823753
100	6328356	7364186
100	6265550	7287798





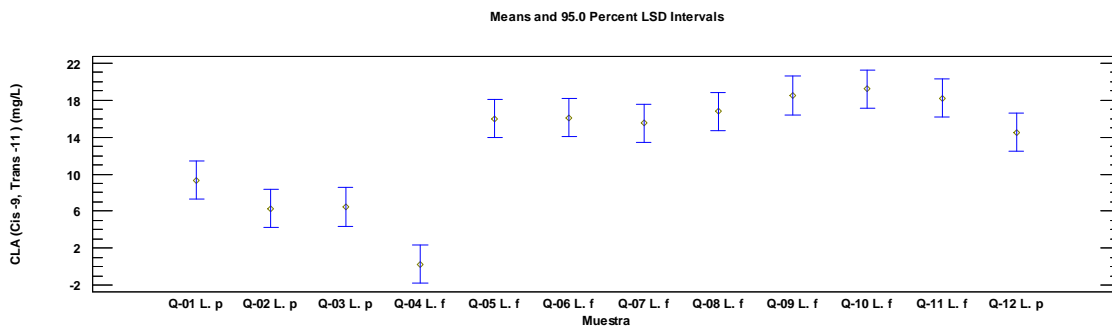
## Anexo 4

### Análisis estadístico de biotransformación de CLA en medio MRS

**Identificación de la capacidad biotransformadora de LA en CLA de las BAL nativas de Queso Adobera en medio MRS.**

ANOVA Table for CLA (Cis -9, Trans -11 ) (mg/L) by Muestra

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	803.418	11	73.038	20.01	0.0000
Within groups	43.8016	12	3.65013		
Total (Corr.)	847.22	23			



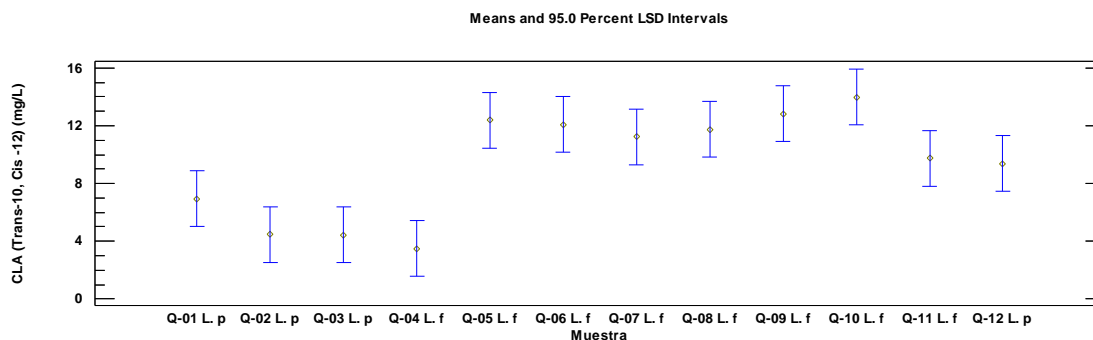
Multiple Range Tests for CLA (Cis -9, Trans -11 ) (mg/L) by Muestra

Method: 95.0 percent LSD

<i>Muestra</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
Q-04 L. f	2	0.25	X
Q-02 L. p	2	6.28	X
Q-03 L. p	2	6.47	X
Q-01 L. p	2	9.345	X
Q-12 L. p	2	14.52	X
Q-07 L. f	2	15.53	XX
Q-05 L. f	2	16.025	XX
Q-06 L. f	2	16.105	XX
Q-08 L. f	2	16.785	XX
Q-11 L. f	2	18.23	XX
Q-09 L. f	2	18.5	XX
Q-10 L. f	2	19.22	X

ANOVA Table for CLA (Trans-10, Cis -12) (mg/L) by Muestra

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	295.051	11	26.8228	8.53	0.0004
Within groups	37.7173	12	3.14311		
Total (Corr.)	332.768	23			



Multiple Range Tests for CLA (Trans-10, Cis -12) (mg/L) by Muestra

Method: 95.0 percent LSD

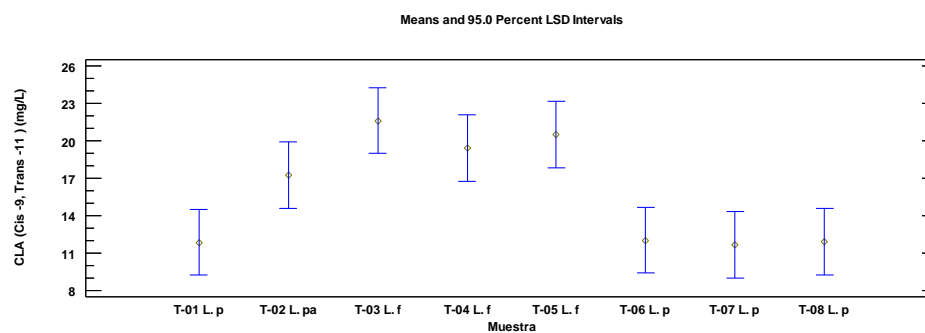
<i>Muestra</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
Q-04 L. f	2	3.5	X
Q-03 L. p	2	4.45	X
Q-02 L. p	2	4.46	X
Q-01 L. p	2	6.955	XX
Q-12 L. p	2	9.37	XX
Q-11 L. f	2	9.745	XX

Q-07 L. f	2	11.225	XX
Q-08 L. f	2	11.75	XX
Q-06 L. f	2	12.085	XX
Q-05 L. f	2	12.375	XX
Q-09 L. f	2	12.845	XX
Q-10 L. f	2	13.975	X

**Identificación de la capacidad biotransformadora de LA en CLA de las BAL nativas, de Tejuino en medio MRS.**

**ANOVA Table for CLA (Cis -9, Trans -11 ) (mg/L) by Muestra**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	266.266	7	38.0379	7.20	0.0062
Within groups	42.2576	8	5.2822		
Total (Corr.)	308.523	15			



**Multiple Range Tests for CLA (Cis -9, Trans -11 ) (mg/L) by Muestra**

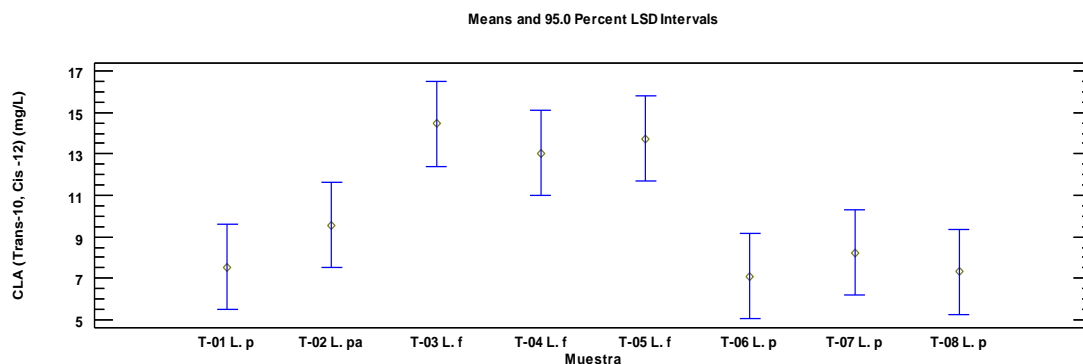
Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
T-07 L. p	2	11.645	X
T-01 L. p	2	11.87	X
T-08 L. p	2	11.925	X
T-06 L. p	2	12.035	XX
T-02 L. pa	2	17.265	XX
T-04 L. f	2	19.41	X
T-05 L. f	2	20.51	X
T-03 L. f	2	21.62	X

**ANOVA Table for CLA (Trans-10, Cis -12) (mg/L) by Muestra**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	135.632	7	19.376	6.18	0.0100
Within groups	25.0901	8	3.13627		
Total (Corr.)	160.722	15			





**Multiple Range Tests for CLA (Trans-10, Cis -12) (mg/L) by Muestra**

Method: 95.0 percent LSD

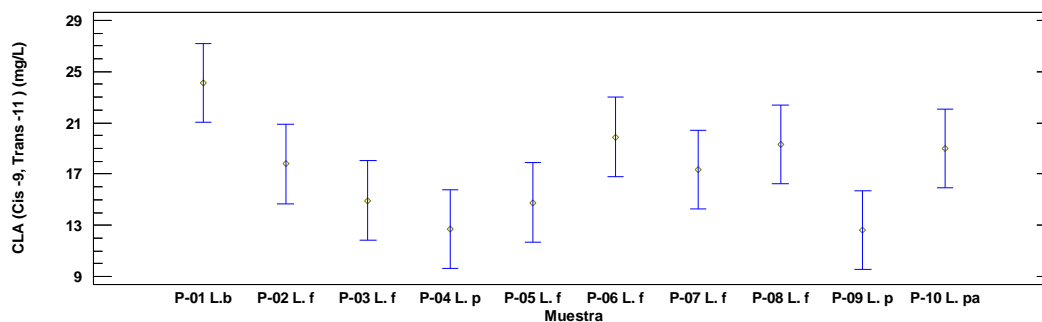
Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
T-06 L. p	2	7.1	X
T-08 L. p	2	7.31	X
T-01 L. p	2	7.55	X
T-07 L. p	2	8.245	X
T-02 L. pa	2	9.56	XX
T-04 L. f	2	13.045	XX
T-05 L. f	2	13.74	X
T-03 L. f	2	14.445	X

**Identificación de la capacidad biotransformadora de LA en CLA de las BAL nativas, de Pulque en medio MRS.**

**ANOVA Table for CLA (Cis -9, Trans -11) (mg/L) by Muestra**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	231.145	9	25.6828	3.37	0.0361
Within groups	76.3164	10	7.63164		
Total (Corr.)	307.461	19			

Means and 95.0 Percent LSD Intervals



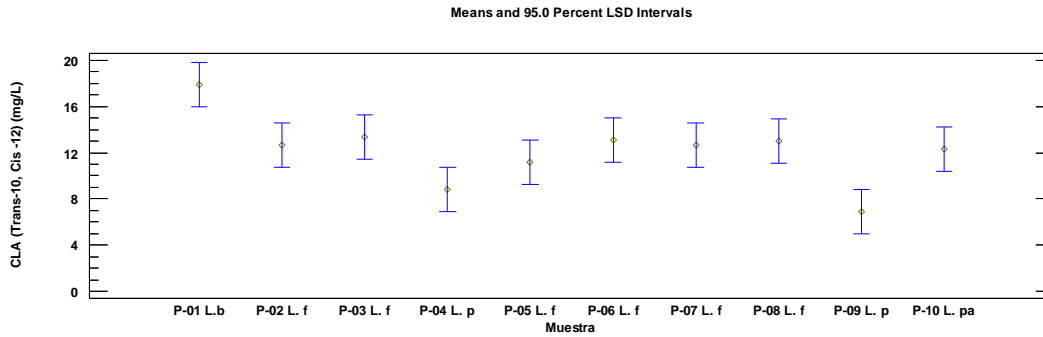
**Multiple Range Tests for CLA (Cis -9, Trans -11 ) (mg/L) by Muestra**

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
P-09 L. p	2	12.6	X
P-04 L. p	2	12.68	X
P-05 L. f	2	14.785	XX
P-03 L. f	2	14.94	XX
P-07 L. f	2	17.35	XX
P-02 L. f	2	17.785	XX
P-10 L. pa	2	19.02	XX
P-08 L. f	2	19.345	XX
P-06 L. f	2	19.905	XX
P-01 L.b	2	24.09	X

**ANOVA Table for CLA (Trans-10, Cis -12) (mg/L) by Muestra**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	152.441	9	16.9379	5.72	0.0059
Within groups	29.6298	10	2.96298		
Total (Corr.)	182.071	19			



**Multiple Range Tests for CLA (Trans-10, Cis -12) (mg/L) by Muestra**

Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
P-09 L. p	2	6.895	X
P-04 L. p	2	8.84	XX
P-05 L. f	2	11.185	XX
P-10 L. pa	2	12.325	XX
P-02 L. f	2	12.64	XX
P-07 L. f	2	12.66	XX
P-08 L. f	2	13.015	X
P-06 L. f	2	13.14	X
P-03 L. f	2	13.34	X
P-01 L.b	2	17.9	X

**Anexo 5**

**pH y °Brix de muestras de Queso Adobera, Tejuino y Pulque**

**pH y °Brix de muestras en experimento por BAL nativas de Queso Adobera en medio MRS.**

Análisis fisicoquímicos				
Muestra	PH	Desv. Est.	°Brix	Desv. Est.
Medio de cultivo	6.32	±0.01	5.3	±0
Medio de cultivo /LA	6.4	±0.02	5.36	±0.05
QA.LP.1	3.84	±0.01	4.03	±0.84
QA.LP2	3.73	±0.03	4.2	±0.11
QA.LP3	3.81	±0	4.15	±0.05

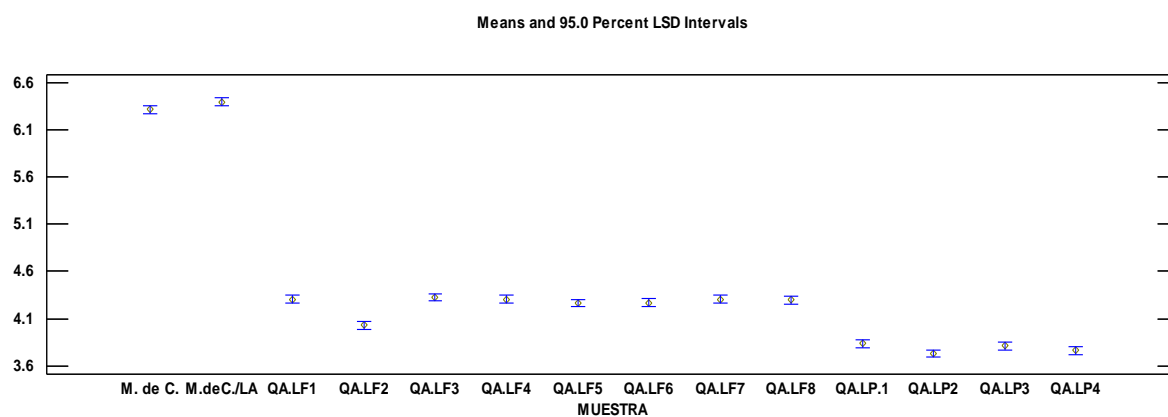
<i>QA.LP4</i>	3.76	±0.01	4.05	±0.05
<i>QA.LF1</i>	4.31	±0.04	3.77	±0.05
<i>QA.LF2</i>	4.03	±0.25	3.75	±0.05
<i>QA.LF3</i>	4.33	±0.01	3.8	±0
<i>QA.LF4</i>	4.31	±0.01	3.3	±0.33
<i>QA.LF5</i>	4.26	±0.01	2.5	±0
<i>QA.LF6</i>	4.27	±0.02	2.35	±0.05
<i>QA.LF7</i>	4.31	±0.02	3.32	±0.35
<i>QA.LF8</i>	4.3	±0.01	3.55	±0.1

### Análisis estadísticos de BAL nativas de Queso Adobera en medio MRS

#### PH

#### ANOVA Table for PH by MUESTRA

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	56.3243	13	4.33264	900.09	0.0000
Within groups	0.33695	70	0.00481357		
Total (Corr.)	56.6613	83			



#### Multiple Range Tests for PH by MUESTRA

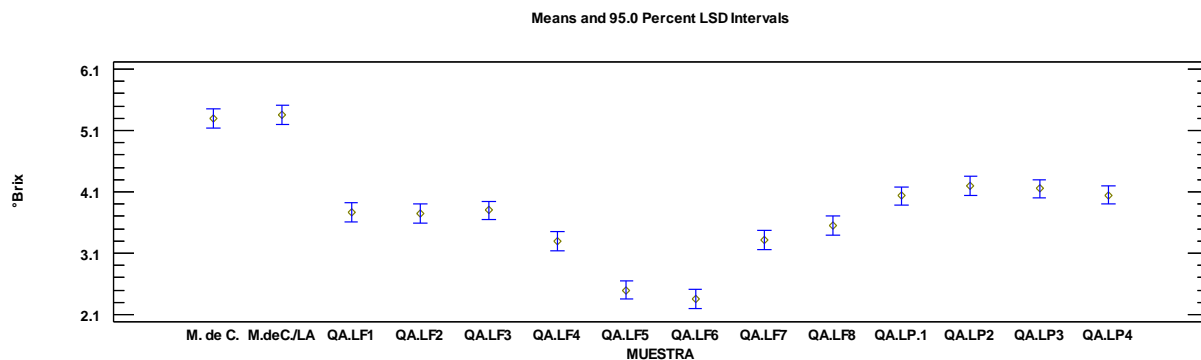
Method: 95.0 percent LSD

MUESTRA	Count	Mean	Homogeneous Groups
QA.LP2	6	3.73	X
QA.LP4	6	3.76333	XX
QA.LP3	6	3.81167	X
QA.LP.1	6	3.835	X
QA.LF2	6	4.02833	X
QA.LF5	6	4.26333	X
QA.LF6	6	4.27	X
QA.LF8	6	4.295	X
QA.LF4	6	4.30667	X
QA.LF1	6	4.30667	X
QA.LF7	6	4.30667	X
QA.LF3	6	4.325	X
M. de C.	6	6.31667	X
M. de C./LA	6	6.39667	X

**°BRIX**

**ANOVA Table for °Brix by MUESTRA**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	56.3449	13	4.33422	62.11	0.0000
Within groups	4.885	70	0.0697857		
Total (Corr.)	61.2299	83			



**Multiple Range Tests for °Brix by MUESTRA**

Method: 95.0 percent LSD

<i>MUESTRA</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
QA.LF6	6	2.35	X
QA.LF5	6	2.5	X
QA.LF4	6	3.3	X
QA.LF7	6	3.31667	X
QA.LF8	6	3.55	XX
QA.LF2	6	3.75	XX
QA.LF1	6	3.76667	XX
QA.LF3	6	3.8	XX
QA.LP.1	6	4.03333	XX
QA.LP4	6	4.05	XX
QA.LP3	6	4.15	X
QA.LP2	6	4.2	X
M. de C.	6	5.3	X
M.deC./LA	6	5.35	X

**pH y °Brix de muestras en experimento por BAL nativas de Tejuino en medio MRS.**

<i>Muestra</i>	<i>PH</i>	<i>Desv.Est..</i>	<i>°Brix</i>	<i>Desv.Est..</i>
<b>Medio de cultivo</b>	6.32	±0.01	5.3	±0
<b>Medio de cultivo /LA</b>	6.4	±0.02	5.36	±0.05
<i>T.LP1</i>	3.8	±0.01	4.2	±0.11
<i>T.LP2</i>	3.92	±0	4.2	±0.33
<i>T.LP3</i>	3.95	0	4.02	±0.04
<i>T.PL4</i>	3.82	±0.01	4.42	±0.04
<i>T.LF1</i>	4.3	±0.01	4.05	±0.05
<i>T.LF2</i>	4.33	±0	5.27	±0.08
<i>T.LF3</i>	4.33	±0	2.7	±0.11
<i>T.LPa1</i>	3.87	±0.01	4.05	±0.05

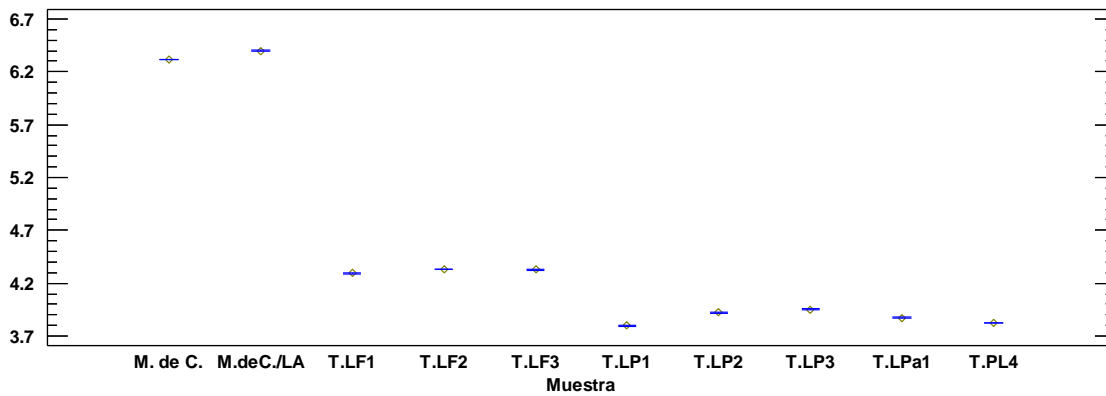
**Análisis estadísticos de BAL nativas de Tejuino en medio MRS**

**ANOVA Table for PH by Muestra**

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between	53.8775	9	5.98639	91628.34	0.0000

groups			
Within	0.00326667	50	0.00006533
groups		33	
Total (Corr.)	53.8807	59	

Means and 95.0 Percent LSD Intervals



### Multiple Range Tests for PH by Muestra

Method: 95.0 percent LSD

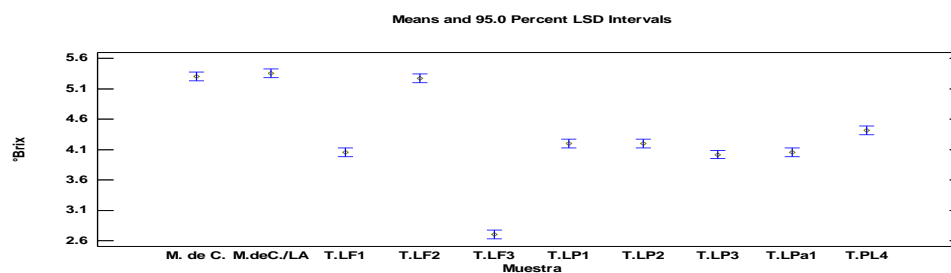
<i>Muestra</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
T.LP1	6	3.79667	X
T.PL4	6	3.82333	X
T.LPa1	6	3.87333	X
T.LP2	6	3.92167	X
T.LP3	6	3.95	X
T.LF1	6	4.295	X
T.LF3	6	4.32833	X
T.LF2	6	4.33167	X
M. de C.	6	6.31667	X
M. de C./LA	6	6.39667	X

### °BRIX

#### ANOVA Table for °Brix by Muestra

<i>Source</i>	<i>Sum of</i>	<i>Df</i>	<i>Mean</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
---------------	---------------	-----------	-------------	----------------	----------------

	<i>Squares</i>		<i>Square</i>		
Between groups	34.8335	9	3.87039	256.32	0.0000
Within groups	0.755	50	0.0151		
Total (Corr.)	35.5885	59			



### Multiple Range Tests for °Brix by Muestra

Method: 95.0 percent LSD

<i>Muestra</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
T.LF3	6	2.7	X
T.LP3	6	4.01667	X
T.LPa1	6	4.05	X
T.LF1	6	4.05	X
T.LP2	6	4.2	X
T.LP1	6	4.2	X
T.PL4	6	4.41667	X
T.LF2	6	5.26667	X
M. de C.	6	5.3	X
M.deC./LA	6	5.35	X

### pH y °Brix de muestras en experimento por BAL nativas de Pulque en medio MRS.

Muestra	PH	Desv.Est.	°Brix	Desv.Est..
<b>Medio de cultivo</b>	6.32	±0.01	5.3	±0



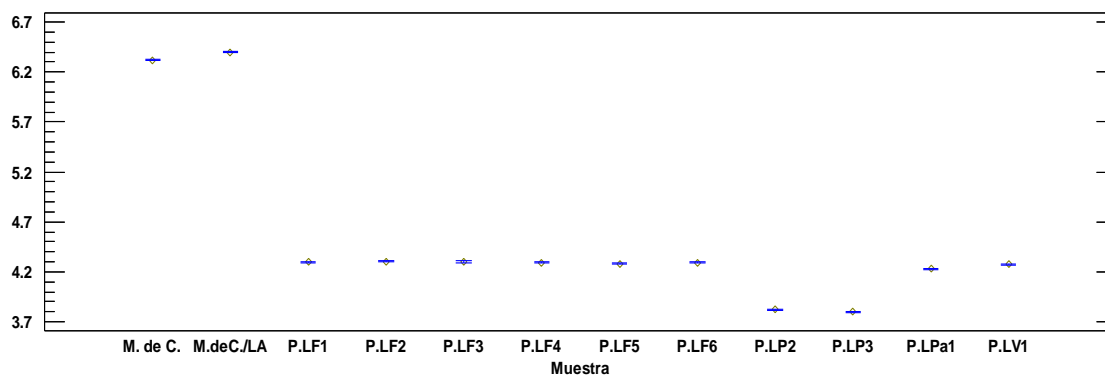
<b>Medio de cultivo/LA</b>	6.4	±0.02	5.36	±0.05
<b>P.LP1</b>	3.82	±0.01	3.3	±0
<b>P.LP2</b>	3.8	±0	3.5	±0
<b>P.LF1</b>	4.3	±0.01	3.43	±0.08
<b>P.LF2</b>	4.31	±0.01	3.5	±0
<b>P.LF3</b>	4.3	±0.01	3.38	±0.04
<b>P.LF4</b>	4.29	±0.01	3.83	±0.08
<b>P.LF5</b>	4.28	±0.01	3.7	±0.11
<b>P.LF6</b>	4.29	±0.01	3.88	±0.46
<b>P.LPa1</b>	4.23	±0.01	3.45	±0.05
<b>P.LV1</b>	4.27	±0.02	3.45	±0.05

### Análisis estadísticos de BAL nativas de Pulque en medio MRS

#### ANOVA Table for PH by Muestra

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	49.1579	11	4.4689	33377.71	0.0000
Within groups	0.00803333	60	0.000133889		
Total (Corr.)	49.166	71			

Means and 95.0 Percent LSD Intervals



#### Multiple Range Tests for PH by Muestra

Method: 95.0 percent LSD

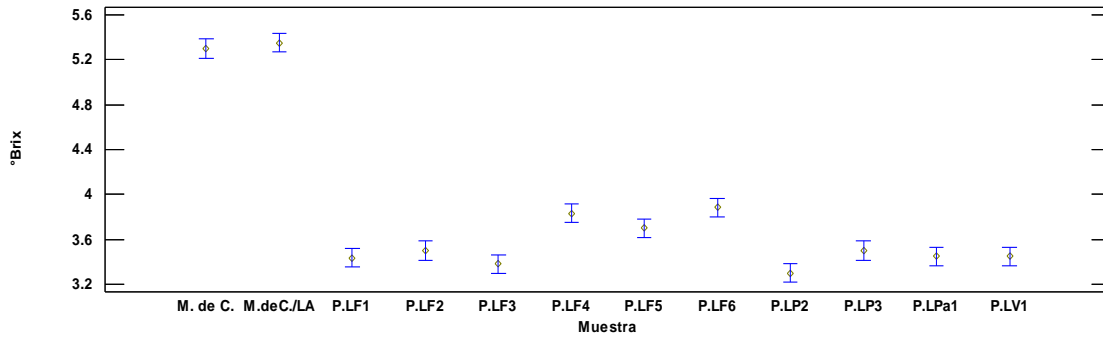
<i>Muestra</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
P.LP3	6	3.8	X
P.LP2	6	3.82333	X
P.LPa1	6	4.23	X
P.LV1	6	4.27333	X
P.LF5	6	4.28	XX
P.LF4	6	4.29167	XX
P.LF6	6	4.29333	XX
P.LF1	6	4.29667	X
P.LF3	6	4.3	X
P.LF2	6	4.305	X
M. de C.	6	6.31667	X
M.deC./LA	6	6.39667	X

**°BRIX**

**ANOVA Table for °Brix by Muestra**

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	33.8049	11	3.07317	150.11	0.0000
Within groups	1.22833	60	0.0204722		
Total (Corr.)	35.0332	71			

Means and 95.0 Percent LSD Intervals



### Multiple Range Tests for °Brix by Muestra

Method: 95.0 percent LSD

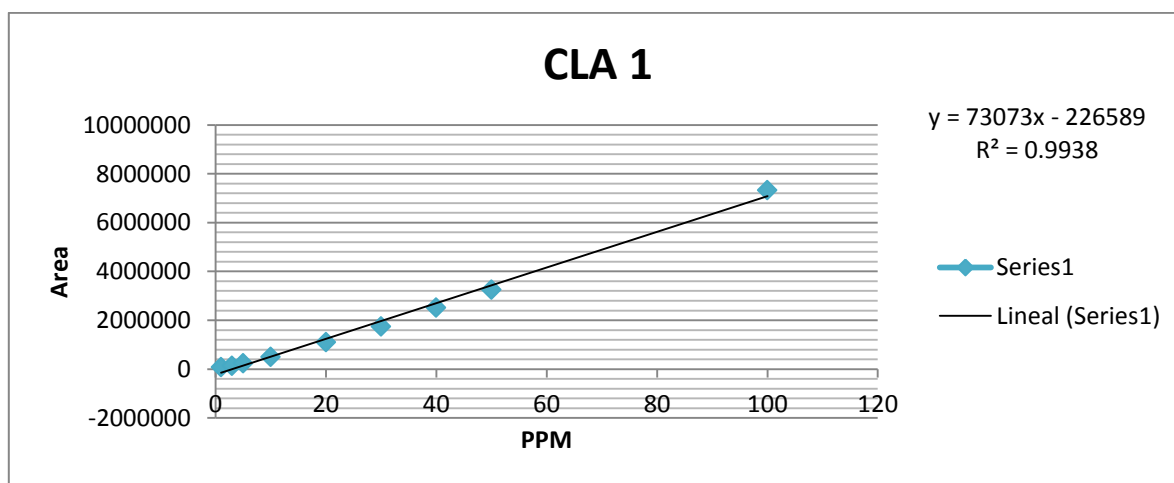
<i>Muestra</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
P.LP2	6	3.3	X
P.LF3	6	3.38333	XX
P.LF1	6	3.43333	XX
P.LV1	6	3.45	XX
P.LPa1	6	3.45	XX
P.LP3	6	3.5	X
P.LF2	6	3.5	X
P.LF5	6	3.7	X
P.LF4	6	3.83333	XX
P.LF6	6	3.88333	X
M. de C.	6	5.3	X
M.deC./LA	6	5.35	X

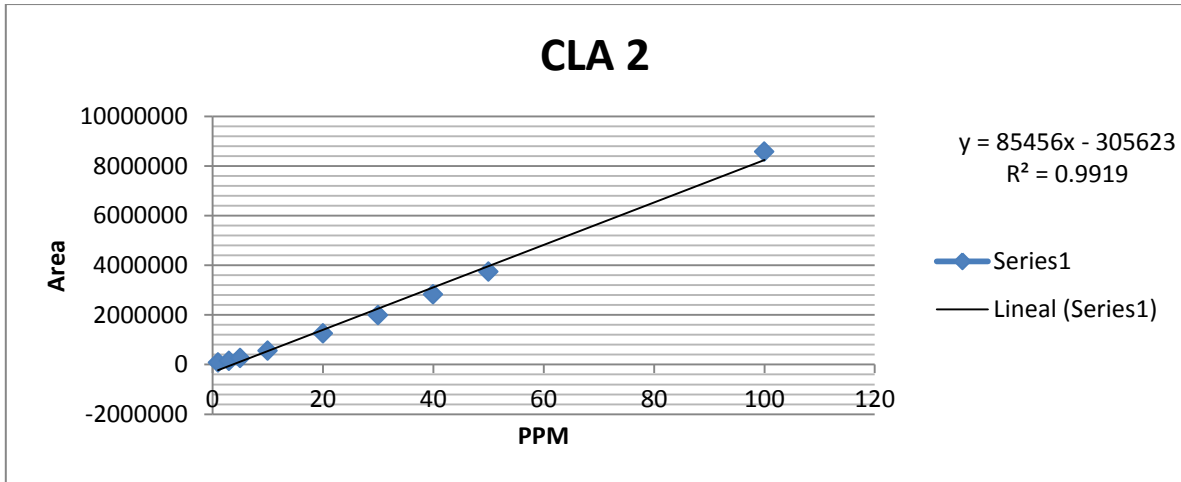
## Anexo 6

### Curvas de CLA para biotransformación en matrices de producto.

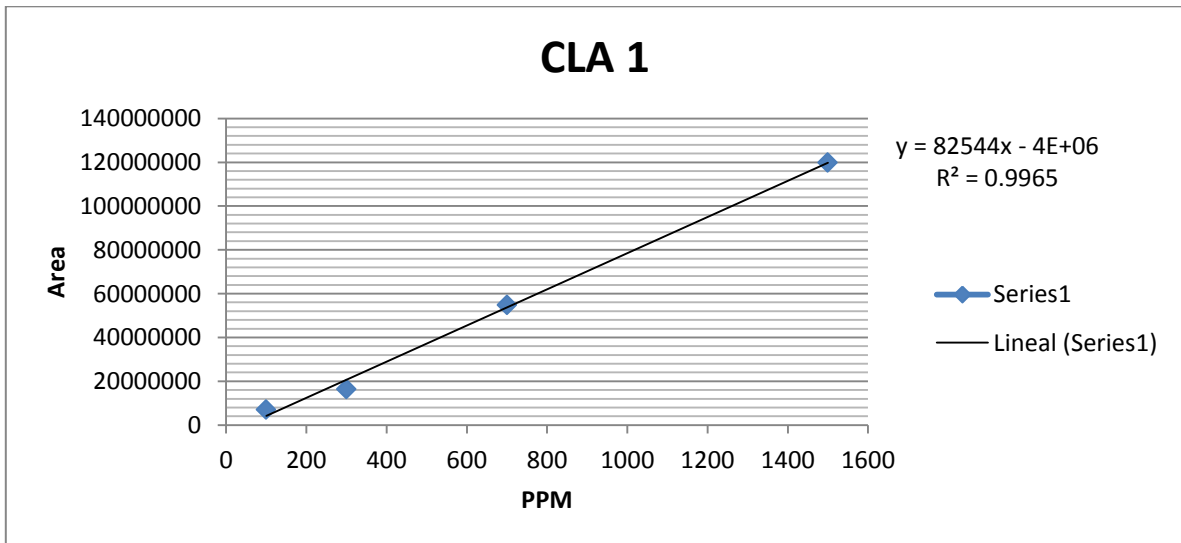
#### Curvas de CLA para biotransformación en matrices de producto.

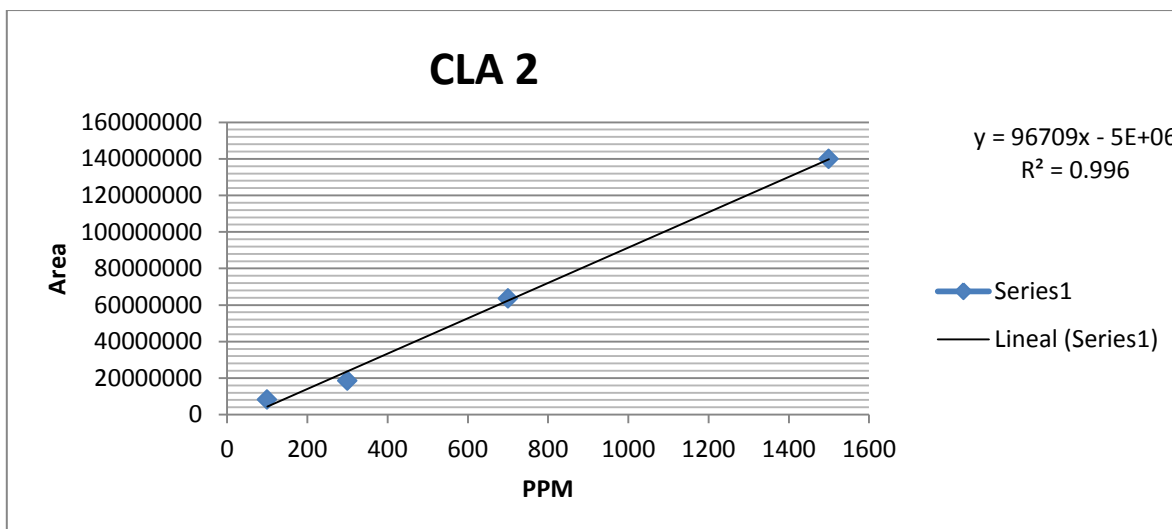
Cal.	PPM	AREA C1 CLA ( <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 )	AREA C2 CLA ( <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12)
<b>1</b>	1PPM	76471	73636
		75143	76025
<b>3</b>	3PPM	137405	142684
		136039	151039
<b>5</b>	5PPM	234747	252442
		255123	284225
<b>10</b>	10PPM	499453	551511
		496152	545090
<b>20</b>	20PPM	1107801	1250893
		1038713	1154709
<b>30</b>	30PPM	1741139	1984437
		1697844	1930727
<b>40</b>	40PPM	2512626	2818031
		2516739	2892990
<b>50</b>	50PPM	3254819	3740653
		3557071	4071110
<b>100</b>	100PPM	7322019	8568152
		7738737	8711089





PPM	AREA CLA 1	AREA CLA 2
100PPM	7100405	8137738
	7355067	8350051
300PPM	16449321	18458793
	16073537	18371727
700PPM	54832406	63571051
	52570091	61416265
1500PPM	119819489	139968669
	118039029	134512078





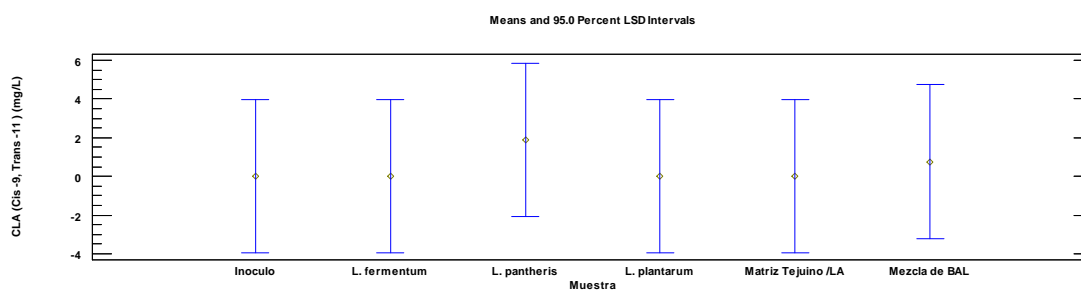
## Anexo 7

Biotransformación de LA en CLA en matriz de Tejuino y Pulque

**Biotransformación de LA en CLA de BAL seleccionadas en la matriz de Tejuino.**

**ANOVA Table for CLA (Cis -9, Trans -11) (mg/L) by Muestra**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	5.95857	5	1.19171	0.11	0.9848
Within groups	63.0692	6	10.5115		
Total (Corr.)	69.0278	11			



### Multiple Range Tests for CLA (Trans-10, Cis -12) (mg/L) by Muestra

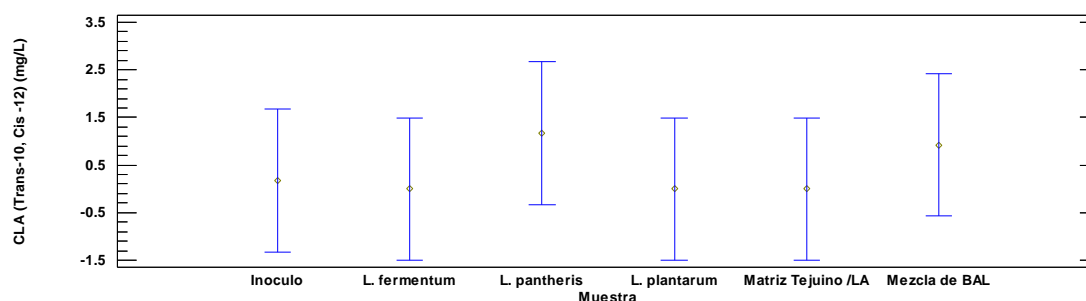
Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
L. fermentum	2	0	X
Matriz Tejuino /LA	2	0	X
L. plantarum	2	0	X
Inóculo	2	0.1725	X
Mezcla de BAL	2	0.92	X
L. pantheris	2	1.17	X

### ANOVA Table for CLA (Trans-10, Cis -12) (mg/L) by Muestra

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	2.78381	5	0.556762	0.37	0.8516
Within groups	8.99051	6	1.49842		
Total (Corr.)	11.7743	11			

Means and 95.0 Percent LSD Intervals



### Multiple Range Tests for CLA (Trans-10, Cis -12) (mg/L) by Muestra

Method: 95.0 percent LSD

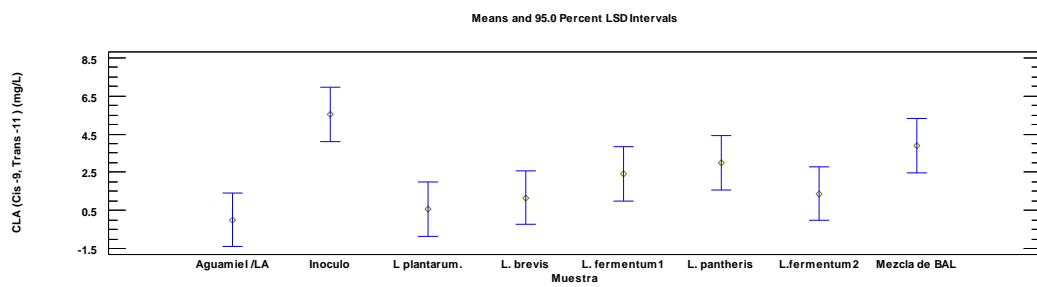
Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
L. fermentum	2	0	X
Matriz Tejuino /LA	2	0	X
L. plantarum	2	0	X
Inóculo	2	0.1725	X
Mezcla de BAL	2	0.92	X
L. pantheris	2	1.17	X

### Biotransformación de LA en CLA de BAL seleccionadas en la matriz Pulque (Aguamiel)

#### ANOVA Table for CLA (Cis -9, Trans -11) (mg/L) by Muestra

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	47.7553	7	6.82218	4.50	0.0255

Within groups	12.1391	8	1.51738
Total (Corr.)	59.8943	15	



**Multiple Range Tests for CLA (Cis -9, Trans -11 ) (mg/L) by Muestra**

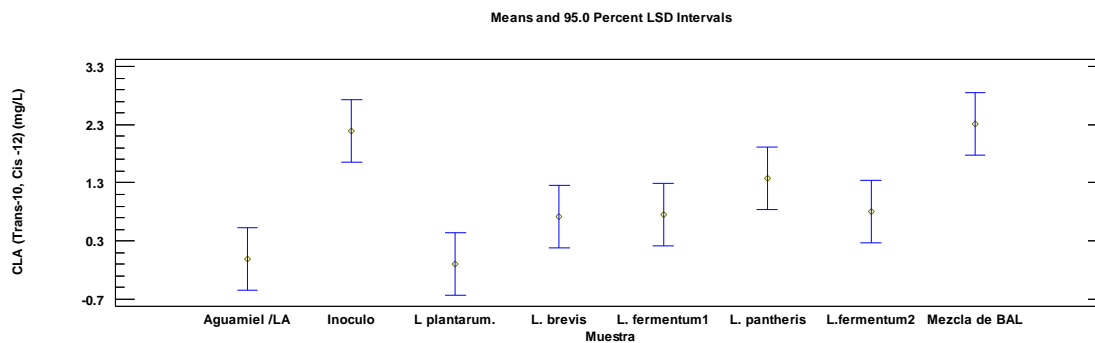
Method: 95.0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
Aguamiel /LA	2	0	X
L. plantarum.	2	0.565	XX
L. brevis	2	1.165	XXX
L.fermentum2	2	1.38	XXX
L. fermentum1	2	2.405	XXX
L. pantheris	2	3.005	XXX
Mezcla de BAL	2	3.9	XX
Inóculo	2	5.525	X

**ANOVA Table for CLA (Trans-10, Cis -12) (mg/L) by Muestra**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	11.3136	7	1.61623	7.45	0.0055
Within groups	1.7345	8	0.216812		
Total (Corr.)	13.0481	15			





### Multiple Range Tests for CLA (Trans-10, Cis -12) (mg/L) by Muestra

Method: 95.0 percent LSD

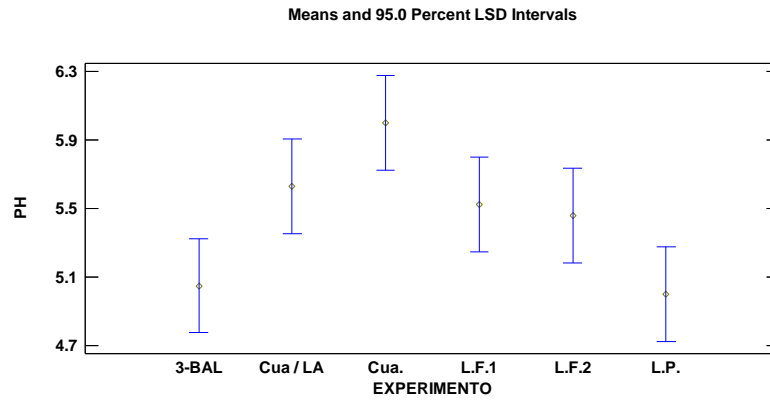
Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
L. plantarum.	2	-0.095	X
Aguamiel /LA	2	0	X
L. brevis	2	0.72	XX
L. fermentum1	2	0.76	XX
L.fermentum2	2	0.8	XX
L. pantheris	2	1.37	XX
Inóculo	2	2.19	X
Mezcla de BAL	2	2.315	X

## Anexo 8

### Análisis estadísticos de BAL nativas de Queso Adobera en una matriz láctea (Cuajada)

#### ANOVA Table for PH by EXPERIMENTO

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	4.22191	5	0.844383	3.83	0.0084
Within groups	6.61105	30	0.220368		
Total (Corr.)	10.833	35			



### Multiple Range Tests for PH by EXPERIMENTO

Method: 95.0 percent LSD

<i>EXPERIMENTO</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
L.P.	6	5.0	X
3-BAL	6	5.04833	X
L.F.2	6	5.45833	XX
L.F.1	6	5.52167	XX
Cua / LA	6	5.63	X
Cua.	6	6.0	X

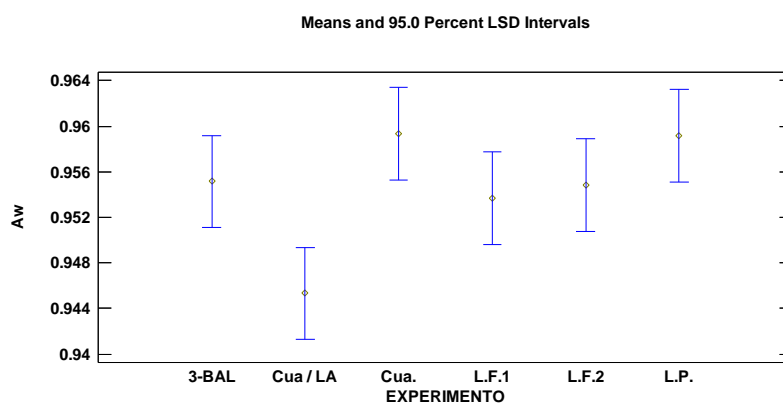
### ANOVA Table for Humedad by EXPERIMENTO

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	755.654	5	151.131	2.22	0.0777
Within groups	2037.84	30	67.9279		
Total (Corr.)	2793.49	35			

Actividad de agua (aW)

**ANOVA Table for AW by EXPERIMENTO**

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	0.00078225	5	0.00015645	3.32	0.0166
Within groups	0.0014125	30	0.0000470833		
Total (Corr.)	0.00219475	35			



**Multiple Range Tests for AW by EXPERIMENTO**

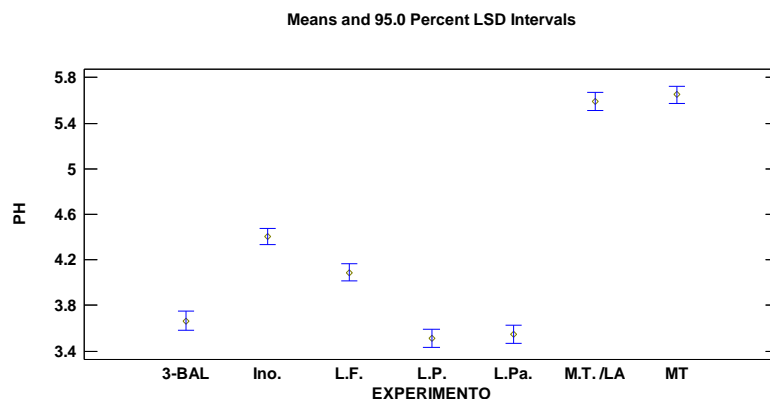
Method: 95.0 percent LSD

<i>EXPERIMENTO</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
Cua / LA	6	0.945333	X
L.F.1	6	0.953667	X
L.F.2	6	0.954833	X
3-BAL	6	0.955167	X
L.P.	6	0.959167	X
Cua.	6	0.959333	X

## Análisis estadísticos de BAL nativas de Tejuino en una matriz de Tejuino

### ANOVA Table for PH by EXPERIMENTO

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	30.2681	6	5.04469	286.80	0.0000
Within groups	0.615641	35	0.0175898		
Total (Corr.)	30.8838	41			



### Multiple Range Tests for PH by EXPERIMENTO

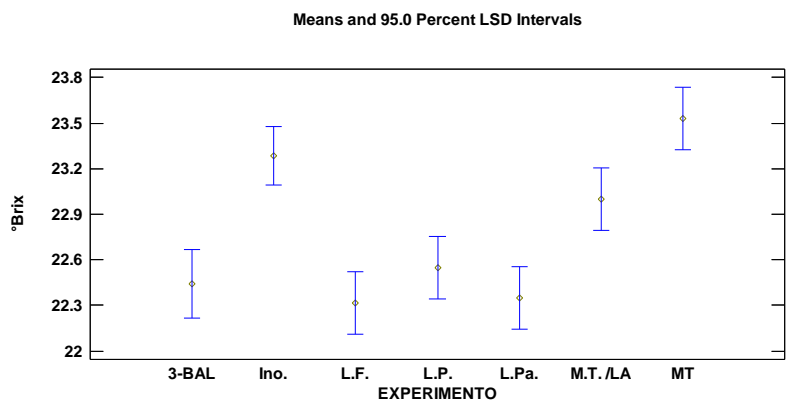
Method: 95.0 percent LSD

<i>EXPERIMENTO</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
L.P.	6	3.51167	X
L.Pa.	6	3.54667	X
3-BAL	5	3.664	X
L.F.	6	4.09	X
Ino.	7	4.40429	X
M.T. /LA	6	5.59333	X
MT	6	5.65	X

°brix

**ANOVA Table for °Brix by EXPERIMENTO**

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	8.75752	6	1.45959	11.85	0.0000
Within groups	4.31224	35	0.123207		
Total (Corr.)	13.0698	41			



**Multiple Range Tests for °Brix by EXPERIMENTO**

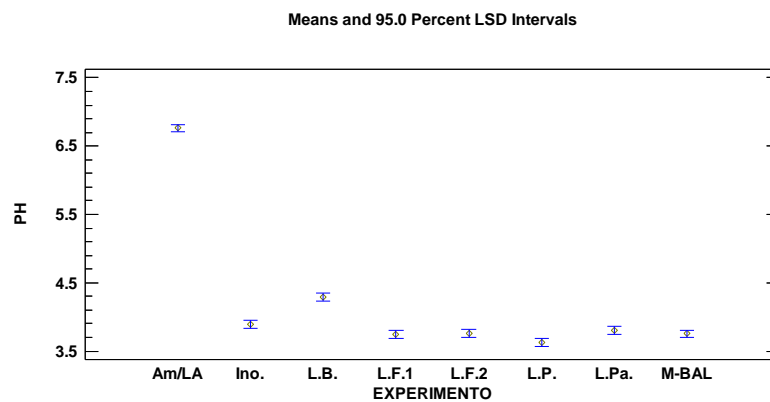
Method: 95.0 percent LSD

<i>EXPERIMENTO</i>	<i>Count</i>	<i>Mean</i>	<i>Homogeneous Groups</i>
L.F.	6	22.3167	X
L.Pa.	6	22.35	X
3-BAL	5	22.44	X
L.P.	6	22.55	X
M.T./LA	6	23.0	X
Ino.	7	23.2857	XX
MT	6	23.5333	X

## Análisis estadísticos de BAL nativas de Pulque en una matriz de Pulque (Aguamiel)

### ANOVA Table for PH by EXPERIMENTO

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	46.508	7	6.644	732.93	0.0000
Within groups	0.3626	40	0.009065		
Total (Corr.)	46.8706	47			



### Multiple Range Tests for PH by EXPERIMENTO

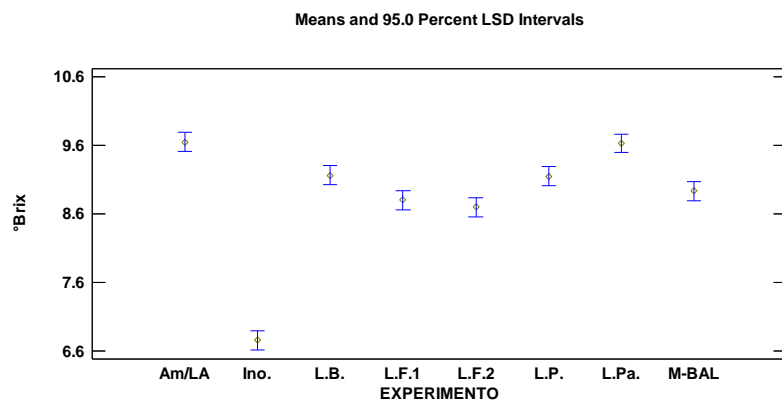
Method: 95.0 percent LSD

EXPERIMENTO	Count	Mean	Homogeneous Groups
L.P.	6	3.63	X
L.F.1	6	3.74167	X
M-BAL	6	3.755	X
L.F.2	6	3.75667	X
L.Pa.	6	3.80333	XX
Ino.	6	3.89333	X
L.B.	6	4.29167	X
Am/LA	6	6.76167	X

°Brix

**ANOVA Table for °Brix by EXPERIMENTO**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	35.3148	7	5.04497	89.89	0.0000
Within groups	2.245	40	0.056125		
Total (Corr.)	37.5598	47			



**Multiple Range Tests for °Brix by EXPERIMENTO**

Method: 95.0 percent LSD

EXPERIMENTO	Count	Mean	Homogeneous Groups
Ino.	6	6.75	X
L.F.2	6	8.7	X
L.F.1	6	8.8	X
M-BAL	6	8.93333	XX
L.P.	6	9.15	X
L.B.	6	9.16667	X
L.Pa.	6	9.63333	X
Am/LA	6	9.65	X

## Anexo 9

### Memorias en extenso

**La Universidad Autónoma de Guadalajara**  
a través de  
**La Unidad Académica de Diseño, Ciencia y Tecnología**  
otorga la presente

*Constancia*

**A:** Sandra Jiménez Espinoza, Mirna Estarrón Espinosa, Eugenia del Carmen Lugo Cervantes, Socorro Josefina Villanueva Rodríguez y María Dolores García Parra

Quien(es) presenta(n) el trabajo libre de investigación:  
***DETERMINATION OF FATTY ACID PROFILE AND PRESENCE OF CONJUGATED INOLEIC ACID, IN TWO ARTISAN FERMENTED PRODUCTS OF THE STATE OF JALISCO (ADOBERA CHEESE AND TEJUINO) BY GAS CHROMATOGRAPHY***

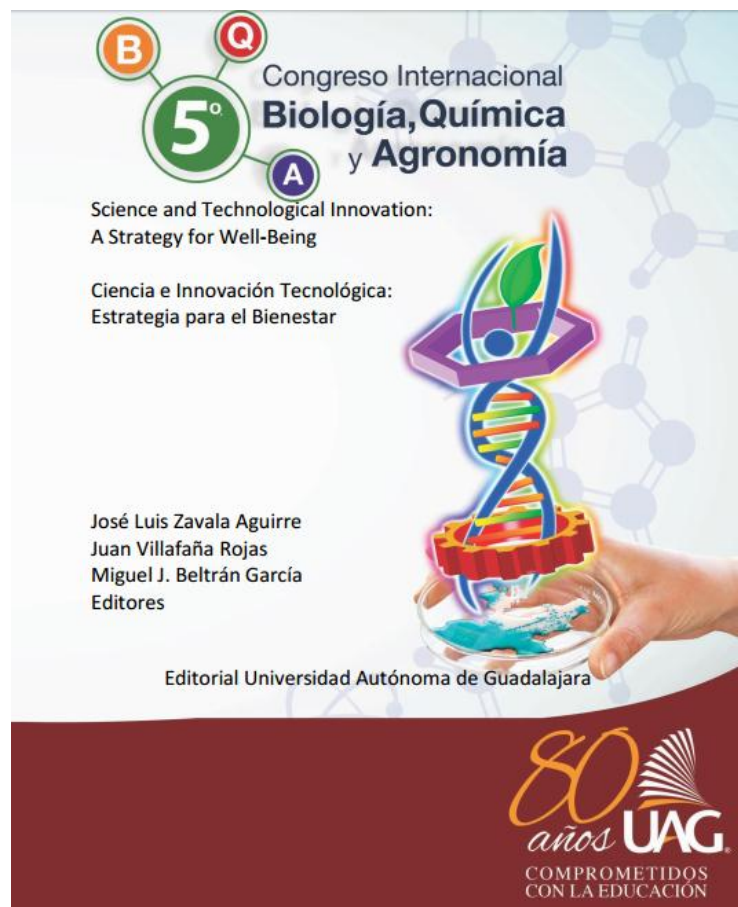
En el **5º Congreso Internacional de Biología, Química y Agronomía “Ciencia e Innovación Tecnológica: Estrategia para la Solución de Problemas Nacionales”**,  
llevado a cabo del 30 de septiembre al 2 de octubre,  
Zapopan, Jalisco, México, 2 de octubre de 2015.

  
Ing. Joel García Ornelas  
Decano de la Unidad Académica de Diseño,  
Ciencia y Tecnología

  
Dr. Miguel J. Beltrán García  
Presidente del Comité Organizador







La información compendiada en este libro digital proviene de los trabajos presentados durante el 5<sup>o</sup> Congreso Internacional de Biología, Química y Agronomía de la Universidad Autónoma de Guadalajara el cual fue celebrado del 31 de septiembre al 2 de octubre de 2015 en las instalaciones de UNICO de la misma Universidad. La información fue presentada por investigadores y grupos de trabajo especializados sobre quienes recae la responsabilidad de la validez de dichas investigaciones. Los autores, comité editorial y la casa editorial no somos responsables de las consecuencias del uso que se dé a la información presentada. La mención de productos comerciales o servicios, de ninguna manera implican compromisos o afiliaciones por parte de la Universidad Autónoma de Guadalajara. Se autoriza el uso y distribución de los contenidos, libremente proporcionados por los autores para su compilación y registro ante ISBN, para lo cual se requiere sean citados dando créditos a sus creadores. Cualquier duda o aclaración deberán ser realizadas directamente con los autores correspondientes cuyos datos de contacto están registrados en cada contribución. El comité editorial intentó unificar los formatos en base a las retroalimentaciones recibidas durante el proceso de galeras; los datos incompletos o faltas ortográficas son responsabilidad de los autores que no dieron retroalimentación.

ISBN: 978-607-719-005-9

EDITORIAL: Universidad Autónoma de Guadalajara, A.C. Av. Patria 1201. Lomas del Valle, Zapopan, Jalisco, 45129. México. Primera edición: 2016



## El Comité Organizador del Food & Biotechnology International Congress 2016

Otorga la Presente Constancia a:

**Jiménez-Espinoza S., Estarrón-Espinosa M., Kirchmayr M. R., Lugo-Cervantes E.  
C., Villanueva-Rodríguez S. J., García-Parra M. D.**

Por su participación con el trabajo:

**“Identificación de Bacterias Lácticas Nativas Obtenidas de una Bebida  
Fermentada Artesanal (Pulque) con Capacidad de Biotransformar el Ácido  
Linoleico en Ácido Linoleico Conjugado”**

**Del 19 al 21 de Octubre de 2016, en la Ciudad de Pachuca, Hidalgo, México.**

Dr. Alejandro Téllez Jurado  
Universidad Politécnica de Pachuca  
Comité Organizador - F&BIC2016



MC. Luis Díaz Batalla  
Universidad Politécnica de Francisco I Madero  
Comité Organizador - F&BIC2016

Dr. Carlos Alberto Gómez Aldapa  
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo  
Comité Organizador - F&BIC2016

M E M O R I A S



Congreso Internacional de Biotecnología y Alimentos  
Hidalgo en la Era Postgenómica

AMALGAMA ARTE EDITORIAL S.A. DE C.V.  
Córdoba 93 Interior 2 Altos  
Colonia Roma  
CP 06700 México DF.



ISBN. 978-607-96797-2-9

*Biotecnología y Alimentos  
en Hidalgo:  
Transitando a la Bioeconomía*



Luis Díaz Batalla  
Carlos Alberto Gómez Aldapa  
Javier Castro Rosas  
Alejandro Téllez Jurado  
*Coordinadores*

Amalgama Arte Editorial S.A. de C.V.  
Córdoba 93 Interior 2 Altos  
Colonia Roma  
C.P. 06700 Ciudad de México  
México



ISBN. 978-607-96797-1-2



La Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León y la  
División de Ciencias de la Vida del Campus Irapuato-Salamanca a través del  
Departamento de Alimentos otorga la presente:

# CONSTANCIA

**S. Jimenez-Espinoza, M. Estarrón-Espinoza, M.R. Kirchmayr, E.C. Lugo-Cervantes, S.J. Villanueva-  
Rodríguez, M.D. Garcia-Parra**

Por su participación con el trabajo libre:

**Biotransformación del ácido Linoleico (AL) en ácido Linoleico conjugado (CLA) por Bacterias Lácticas nativas  
de queso Adobera artesanal del estado de Jalisco**

Presentado en el III Congreso Internacional Sobre Innovación y Tendencias en Procesamiento  
de Alimentos y en el XVIII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos

Llevado a cabo del 18 al 20 de Mayo del 2016 en la ciudad de Guanajuato, Gto.  
División de Ciencias Económico Administrativa-UGTO

*Ma. del Rosario Abraham Juárez*  
**Dra. Ma. del Rosario Abraham Juárez**  
Directora del Departamento de Alimentos-UG  
Y Coordinadora del evento

*Juan Gabriel Biez González*  
**Dr. Juan Gabriel Biez González**  
Coordinador del evento  
Facultad de Ciencias Biológicas-UANL



# **XLVIII** Congreso Internacional Inocuidad de Alimentos

XXXIII Reunión Nacional de Microbiología, Higiene y Toxicología de los Alimentos  
30 de septiembre y 01 de octubre 2016, Guadalajara, Jalisco, México

La Universidad de Guadalajara otorga la presente

# CONSTANCIA

A: Jiménez Espinoza S., Estarrón Espinosa M., Kirchmayr M. R, Lugo Cervantes E.C.,  
Villanueva Rodríguez S.J., García Parra M.D.

por su participación como:

**Autores del trabajo libre presentado en modalidad cartel**  
**“Identificación de bacterias lácticas nativas con capacidad de biotransformar  
el ácido Linolénico en ácido Linoléico conjugado de dos bebidas  
artesanales (Tejuino y Pulque)”**

  
Dra. Ma. Refugio Torres Viteola  
Coahuila Universidad de Ciencias Exactas e Ingenierías

  
Dra. Ruth Padilla Muñoz  
Facultad de Ciencias, Universidad de  
Guadalajara

  
Dr. Oscar Blanco Alonso  
Director de la División de Ciencias Básicas del Centro  
Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías

UAGM  
University

