

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

**IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS EN QUESOS ARTESANALES
ELABORADOS EN DIFERENTES REGIONES DE OLANCHO, HONDURAS.**

POR:

MARCOS ANDRES BENITEZ TORRES

PROYECTO DE TESIS



CATACAMAS

OLANCHO

NOVIEMBRE, 2025

IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS EN QUESOS ARTESANALES
ELABORADOS EN DIFERENTES REGIONES DE OLANCHO, HONDURAS

POR:

MARCOS ANDRES BENITEZ TORRES

DEBORA KAROLINA MEJIA M.Sc

Asesor Principal

TESIS

PRESENTADO A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO
REQUISITO PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE
INGENIERO EN TECNOLOGÍA ALIMENTARIA

CATACAMAS

OLANCHO

NOVIEMBRE,2025

ACTA DE SUSTENTACIÓN

DEDICATORIA

A **Dios**, por concederme la sabiduría, la fortaleza y la claridad necesarias para avanzar con determinación en cada etapa de mi formación académica. Su guía ha sido esencial para que hoy este logro se haga realidad.

A mis padres, **Bertilio Benítez Torres y Maira Antonieta Torres Santos**, por su amor, entrega y sacrificio permanente. Gracias por inculcarme valores, disciplina y principios que han moldeado mi carácter y han sido fundamentales para culminar esta etapa. Todo lo que soy y todo lo que he alcanzado se los debo en gran parte a ustedes.

A mis hermanos **Claudia Montoya, Daniel Eduardo Benítez Torres y Josué Bertilio Benítez Torres**, quienes me han acompañado con apoyo incondicional, cariño y palabras de ánimo. Su presencia ha sido una motivación constante.

A mi abuela **Elba Marina Santos**, por sus oraciones, su amor y por creer siempre en mí. A la memoria de mi abuelo **Valentín Torres Corea**, que desde el cielo sigue siendo guía e inspiración. Este triunfo también honra su legado y su recuerdo.

A **toda mi familia**, por su apoyo, sus consejos, su compañía y por estar presentes de una u otra manera en los momentos importantes. Cada gesto, cada palabra y cada muestra de cariño han contribuido a que hoy pueda celebrar este logro. Gracias por ser un pilar fundamental en mi vida.

Y especialmente, a mi novia **Amy Janniry España Moreno**, por ser mi apoyo emocional y mi motivación constante. Gracias por tu paciencia, comprensión y amor incondicional; por acompañarme incluso en los días más difíciles, impulsándome a no rendirme. Tu presencia ha sido esencial para culminar este proceso.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco profundamente a **Dios**, por ser mi guía todo el tiempo, por darme fortaleza, sabiduría y perseverancia para culminar con éxito esta etapa tan importante de mi vida.

A mi familia, por su amor incondicional, apoyo y comprensión en todo momento. A mi madre **Maira Antonieta Torres Santos**, por su ejemplo de esfuerzo y dedicación; a mi padre **Bertilio Benítez Torres**, por su constante respaldo y confianza en mí, su compañía y aliento durante este proceso.

Expreso mi agradecimiento a mis asesores de la Universidad Nacional de Agricultura, **MSc. Débora Mejía, MSc. Amílcar Colindres y MSc. Luis Castillo**, por su orientación, compromiso y valiosos aportes en el desarrollo de esta investigación. Agradezco especialmente a la **MSc. Débora Mejía**, por ser el enlace principal que hizo posible esta experiencia, por abrirme las puertas, por su apoyo incondicional y por acompañarme en la realización de esta tesis, tanto dentro como fuera del país. Su confianza y disposición fueron fundamentales para alcanzar este objetivo.

De igual manera, agradezco a los profesores del Laboratorio de Micología y Micotoxinas del Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Universidade Federal de Lavras (UFLA), **PhD. Luis Roberto Batista, PhD. Kelly Pereira y PhD. Miriam Santos**, por su acompañamiento, paciencia y apoyo técnico. Agradezco también a quienes integran el núcleo “Micoalis” del laboratorio, por su colaboración y amistad durante mi estancia en Brasil.

Finalmente, extendiendo mi gratitud a las instituciones que hicieron posible esta experiencia académica, a la **Universidad Nacional de Agricultura (UNAG)** y a la **Universidad Federal de Lavras (UFLA)**, por brindarme los medios y el espacio para desarrollar mi formación profesional y personal.

CONTENIDO

	pág.
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
LISTA DE TABLAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE ILUSTRACIONES.....	ix
LISTA DE ANEXOS.....	x
RESUMEN	xi
INTRODUCCION.....	1
I. OBJETIVOS	2
1.1. Objetivo general:	2
1.2. Objetivos específicos:.....	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Contexto lácteo en Honduras y en Olancho	3
2.2. Relevancia de los quesos artesanales para la economía local:	4
2.3. Necesidad de caracterizar la microbiota fúngica (levaduras):.....	4
2.4. Problemática de la falta de pasteurización en la industria láctea hondureña.....	5
2.4.1. Panorama regulatorio y cumplimiento de normas:.....	5
2.4.2. Riesgos sanitarios asociados al uso de leche cruda:	5
2.4.3. Impacto en la calidad e inocuidad de los quesos artesanales:	6
2.5. Potenciales riesgos sensoriales y sanitarios vinculados a la proliferación de levaduras:.....	6
2.5.1. Conservación de la identidad sensorial y cultural del producto:	7
2.6. Queso fresco:	7
2.7. Queso semiseco:	8
2.8. Quesillo:	8
2.9. Variables tecnológicas que pueden influir en la flora levaduriforme:	8
2.9.1. Contenido de sal y método de salado:	8
2.9.2. pH y acidez de la cuajada:	9

2.10.	Levaduras en productos lácteos desde una perspectiva tecnológica	9
2.11.	Levaduras.....	9
2.11.1.	Candida albicans:.....	9
2.11.2.	Candida Famata:	10
2.11.3.	Candida Kefyr:	10
2.11.4.	Candida krusei	10
2.11.5.	Candida metapsilosis	10
2.11.6.	Candida pararugosa	11
2.11.7.	Candida parapsilosis	11
2.11.8.	Candida tropicalis	11
2.11.9.	Candida zeylanoides	11
2.11.10.	Cyberlindnera fabianii	12
2.11.11.	Pichia norvegensis	12
2.11.12.	Saccharomyces cerevisiae	12
2.11.13.	Trichosporon asahii	12
2.11.14.	Trichosporon faecale	13
2.11.15.	Trichosporon japonicum.....	13
2.11.16.	Trichosporon loubieri	13
2.12.	Factores que determinan la sucesión y dominancia de levaduras:	13
2.12.1.	pH (acidez):	13
2.12.2.	Concentración de sal (NaCl):	14
2.12.3.	Temperatura:.....	14
2.13.	Aislamiento en medios selectivos y enumeración (log CFU g ⁻¹):.....	14
2.14.	MALDI-TOF MS	15
2.14.1.	Diseño experimental	15
III.	MATERIALES Y METODOS.....	17
3.1.	Descripción del área de investigación	17
3.2.	Materiales y equipo	17
3.3.	Muestreo	18
3.4.	Procedimiento experimental para levaduras:.....	19
3.4.1.	Preparación y homogeneización de las muestras.	19
3.4.3.	Identificación de levaduras mediante MALDI-TOF MS.	20
3.4.4.	Caracterización funcional preliminar de levaduras.	20

3.5.	Análisis de datos	21
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
4.1.	Recuento de levaduras en las muestras	22
4.2.	Levaduras identificadas	22
4.2.1.	Queso fresco de la región de A1	24
4.2.2.	Queso fresco de la región de B1	25
4.2.3.	Queso fresco de la región de C1.....	26
4.2.4.	Quesillo de la región de A2	28
4.2.5.	Quesillo de la región de B2	29
4.2.6.	Quesillo de la región de C2	30
4.2.7.	Queso semi-seco de la región de B3.....	32
V.	CONCLUSIONES	34
VI.	RECOMENDACIONES	36
	BIBLIOGRAFIA	37
	ANEXOS	46

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Materiales y equipos	17
Tabla 2: Clasificación de las muestras recolectadas según región y variedad de queso	18
Tabla 3: Población de hongos de las muestras de queso ($\log(x+1)$ UFC·g ⁻¹)	22
Tabla 4: Aislamientos fúngicos de las muestras de queso	23

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Distribución porcentual de las levaduras identificadas en queso fresco artesanal elaborado en la región A1, Olancho.	24
Figura 2: Distribución porcentual de las levaduras identificadas en queso fresco artesanal elaborado en la región B1, Olancho.	25
Figura 3: Distribución porcentual de las levaduras identificadas en queso fresco artesanal elaborado en la región C1, Olancho.	27
Figura 4: Distribución porcentual de las levaduras identificadas en quesillo artesanal elaborado en la región A2, Olancho.	28
Figura 5: Distribución porcentual de las levaduras identificadas en quesillo artesanal elaborado en la región B2, Olancho.	29
Figura 6: Distribución porcentual de las levaduras identificadas en quesillo artesanal elaborado en la región C2, Olancho	31
Figura 7: Distribución porcentual de las levaduras identificadas en queso semiseco artesanal elaborado en la región C2, Olancho	32

LISTA DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1: Muestra de queso diluida	47
Ilustración 2: Preparación de la dilución	47
Ilustración 3: Siembra por extensión en superficie.....	48
Ilustración 4: Distribución homogénea luego del vertido en placa de medio DRBC...	48
Ilustración 5: Almacenamiento de placas para incubación en BOD	49
Ilustración 6: Colonias de Levaduras en medio YEPG	49
Ilustración 7: Preservación de aislamientos de levadura	50
Ilustración 8: Almacenamiento en microtubos Eppendorf	50
Ilustración 9: Resiembra de levaduras aisladas en placas.....	51
Ilustración 10: Crecimiento de levaduras luego de 18 horas a 25 grados Celsius.....	51
Ilustración 11: Preparación de las levaduras aisladas para el Malditof	52
Ilustración 12: Preparación de microtubos Eppendorf para el análisis MALDI-TOF MS	52
Ilustración 13: Colocación levaduras en la placa MSP para lectura en MALDI-TOF MS	53
Ilustración 14: Centrifugación de muestras	53
Ilustración 15: Calibración de la máquina del MALDI-TOF-MS	54
Ilustración 16: Resultados en el computador del MALDI-TOF MS	54

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Dichloran Rose Bengal Cloramphenicol (DRBC)	46
Anexo 2: Etapas del análisis microbiológico.	47
Anexo 3: Etapas del procesamiento e identificación de levaduras mediante MALDI-TOF	51
Anexo 4: Tabla de codificación para el MALDI-TOF MS	55
Anexo 5: Amigos y colaboradores para la realización de la Investigación.....	55

Benítez Torres, M.A. 2025. Identificación de levaduras en quesos artesanales elaborados en diferentes regiones de Olancho, Honduras. Tesis. Ing. En Tecnología Alimentaria, Catacamas, Olancho, Honduras, Universidad Nacional de Agricultura. Pag.68

RESUMEN

Los quesos artesanales elaborados en el departamento de Olancho representan productos de alta importancia cultural y económica. No obstante, el uso de leche cruda y la ausencia de controles microbiológicos durante su elaboración incrementan el riesgo de contaminación por levaduras oportunistas y alterantes. Estos microorganismos pueden afectar la inocuidad y las características sensoriales del queso, por lo que su identificación es esencial para comprender la microbiota presente en los quesos, frescos, semisecos y quesillos producidos en la región. El objetivo de esta investigación fue aislar, identificar y caracterizar las levaduras presentes en quesos artesanales de distintas regiones de Olancho. Se recolectaron nueve muestras de queso (fresco, semiseco y quesillo) provenientes de diversas zonas del departamento. Las muestras fueron homogenizadas, sometidas a diluciones seriadas y sembradas en medios selectivos para levaduras. Posteriormente, las colonias aisladas se purificaron e identificaron mediante espectrometría MALDI-TOF MS. Los resultados se analizaron mediante estadística descriptiva para determinar la frecuencia y diversidad de especies. Se identificaron levaduras pertenecientes a los géneros *Candida*, *Pichia*, *Saccharomyces* y *Trichosporon*. Entre ellas, *Candida famata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* fueron las especies predominantes. La región (B1,B2,B3) presentó el perfil más favorable, con mayor presencia de levaduras tecnológicamente útiles como *C. famata*, mientras que las regiones (A1,A2,A3) y (C1,C2,C3) mostraron una mayor proporción de especies oportunistas relacionadas con deficiencias higiénicas. En conjunto, los quesos artesanales de Olancho exhiben una microbiota levaduriforme diversa, compuesta por especies beneficiosas y oportunistas. Los hallazgos resaltan la necesidad de fortalecer las prácticas de higiene durante el ordeño, manipulación y procesamiento para mejorar la inocuidad del producto

Palabras claves: *Candida*, inocuidad, Fermentación, MALDI-TOF MS.

INTRODUCCION

La producción de quesos artesanales en Olancho, Honduras, representa una tradición importante tanto cultural como económicamente. Sin embargo, la ausencia de controles microbiológicos rigurosos durante su elaboración puede comprometer la calidad e inocuidad del producto.(Cámara et al. 2024) Las levaduras presentes en estos quesos desempeñan un papel fundamental en el desarrollo de características sensoriales, como el aroma, la textura y el sabor, pero también pueden representar riesgos si no se identifican y gestionan adecuadamente.

La espectrometría de masas MALDI-TOF MS ha demostrado ser una herramienta eficiente para la identificación precisa de levaduras en productos lácteos, permitiendo clasificarlas hasta el nivel de especie(Geronikou et al. 2020). En este contexto, la presente investigación tiene como objetivo aislar, identificar y caracterizar las levaduras presentes en los quesos artesanales. Se analizaron los tipos de quesos, fresco, semiseco, y quesillo mediante métodos de cultivo, recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) y análisis morfológico y fisiológico.

Los resultados permitieron diferenciar levaduras beneficiosas, que contribuyen a la maduración y perfil sensorial del queso, de aquellas potencialmente patógenas o alterantes. Esto contribuyo a mejorar los procesos de producción artesanal mediante el uso controlado de microorganismos beneficiosos, elevando así la calidad, autenticidad y seguridad de los quesos tradicionales de Olancho.

I. OBJETIVOS

1.1. Objetivo general:

- Identificar y caracterizar las levaduras presentes en quesos artesanales de Olancho (fresco, semiseco, y quesillo), analizando su diversidad y su influencia en la calidad del producto.

1.2. Objetivos específicos:

- Aislar y cuantificar las levaduras presentes en las muestras de quesos elaborados en diferentes regiones de Olancho.
- Identificar las especies de levaduras mediante el método MALDI-TOF MS.
- Analizar la posible relación entre las especies de levaduras encontradas y características sensoriales o de calidad del queso artesanal.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Contexto lácteo en Honduras y en Olancho

La producción lechera de Honduras se divide entre un sector industrial pasteurizador y un amplio sector artesanal. Según datos del Ministerio de Agricultura, en el país existen más de 472 productores de quesos artesanales, concentrados en regiones ganaderas como Olancho(Enríquez et al. 2016).

Estas microempresas procesan alrededor del 65% de la leche nacional de forma no pasteurizada, mientras que solo un 35% de la leche se pasteuriza en plantas formales. Olancho, en particular, es reconocido por su tradición quesera y aportó muestras significativas en estudios previos sobre quesos artesanales hondureños(Enriquez et al. 2016).

Cada año se destinan más de 600 millones de litros de leche a la elaboración de quesos artesanales en el país, reflejando la importancia económica y cultural de estos productos en las comunidades locales. No obstante, pese a su volumen e importancia comercial, se conoce muy poco sobre el microbiota presente en estos quesos tradicionales. Esta falta de información es especialmente notable en el caso de las (levaduras), cuya caracterización ha sido incipiente. El primer estudio publicado sobre la biota indígena de quesos hondureños data apenas de 2016, lo que evidencia la necesidad de profundizar en el conocimiento microbiológico de estos productos(Enriquez et al. 2016)

2.2. Relevancia de los quesos artesanales para la economía local:

Los quesos artesanales constituyen una fuente de sustento y empleos rurales en Honduras, además de ser parte de la dieta cotidiana. Muchas familias en Olancho dependen de la producción y venta de quesos frescos o madurados de manera tradicional, transmitiendo saberes de generación en generación. El mercado nacional absorbe la mayor parte de esta producción, e incluso existe demanda en países vecinos y comunidades de migrantes, aunque la exportación formal está limitada por requisitos sanitarios no cumplidos(Arrivillaga, 2013).

2.3. Necesidad de caracterizar la microbiota fúngica (levaduras):

Históricamente, la atención se ha centrado en las bacterias lácticas de los quesos (por su papel en la fermentación y conservación); sin embargo, las levaduras constituyen una parte igualmente importante de la ecología de los quesos artesanales. Las levaduras nativas pueden influir en la maduración, el sabor y la calidad sanitaria del queso, ya sea de forma beneficiosa o perjudicial. En Honduras, la ausencia de cultivos iniciadores comerciales en la elaboración artesanal implica que son los microorganismos presentes en la leche cruda y el ambiente quienes dirigen la fermentación(Bintsis 2021).

Identificar cuáles especies de levaduras están involucradas en este proceso espontáneo es crucial para comprender cómo se desarrollan las características del queso olanchano y cómo varían entre regiones o tipos de queso. Además, existe preocupación por la presencia de levaduras oportunistas o dañinas: algunas especies de *Candida*, *Pichia* u otros géneros presentes en quesos de leche cruda se asocian a infecciones en humanos inmunocomprometidos o a resistencias a antifúngicos(Sánchez Quitian et al. 2024).

2.4. Problemática de la falta de pasteurización en la industria láctea hondureña.

2.4.1. Panorama regulatorio y cumplimiento de normas:

La legislación sanitaria hondureña, alineada con estándares internacionales, exige la pasteurización de la leche o un madurado prolongado de los quesos para comercialización segura. No obstante, en la práctica una proporción mayoritaria de los productores artesanales no cumple con estas normas. Se estima que alrededor del 66% de los fabricantes de queso artesanal en Honduras no satisfacen los requerimientos nacionales de inocuidad alimentaria(Enríquez et al. 2016).

Esto incluye principalmente a pequeños talleres rurales que elaboran queso con leche cruda sin tratamiento térmico. La ausencia de pasteurización se debe tanto a limitaciones de infraestructura (equipos de calentamiento, refrigeración) como a la percepción de que el calentamiento tradicional del cuajo es suficiente para garantizar la seguridad del producto. Iniciativas gubernamentales para normar la producción artesanal han existido (ej. comités técnicos de normalización de lácteos), pero hasta hace poco no se habían establecido estándares técnicos específicos para quesos artesanales frescos y quesillo(José et al. 2003).

2.4.2. Riesgos sanitarios asociados al uso de leche cruda:

Conlleva la posible presencia de patógenos transmitidos por alimentos. Diversos estudios han documentado brotes de enfermedades vinculados al consumo de quesos frescos elaborados con leche cruda en Latinoamérica. Por ejemplo, la *Listeria monocytogenes* – bacteria causante de listeriosis– se ha aislado con frecuencia en quesos frescos tipo latino (queso fresco, quesillo, etc.), con prevalencias reportadas de hasta 37% en productos examinados(Márquez-González et al. 2022).

En Honduras, un muestreo de quesos artesanales vendidos en mercados de Tegucigalpa encontró que 2 de 18 muestras estaban contaminadas con *E. coli* O157:H7 (patógeno causante de síndrome urémico) y varias excedían los límites permisibles de coliformes fecales. Asimismo, organismos como *Salmonella enterica*, *Brucella spp.* o

Mycobacterium bovis (tuberculosis bovina) son riesgos latentes en lácteos no pasteurizados, habiéndose asociado casos de brucelosis y tuberculosis a quesos frescos en la región mesoamericana. La población más vulnerable incluye mujeres embarazadas, niños, ancianos y personas inmunosuprimidas, para quienes estos productos pueden representar un peligro grave (Commissioner 2025).

2.4.3. Impacto en la calidad e inocuidad de los quesos artesanales:

La falta de pasteurización en quesos artesanales implica riesgos microbiológicos y afecta la calidad sensorial y la vida útil del producto. Aunque la leche cruda aporta sabores complejos por su microbiota natural, también puede contener microorganismos indeseables que deterioran el queso. Sin cultivos iniciadores estandarizados y con una cadena de frío deficiente, se generan lotes inconsistentes y propensos a alteraciones. Estudios muestran que los quesos con leche pasteurizada y cultivos controlados presentan mejor estabilidad microbiana y menos defectos (Dolci et al. 2008).

En Honduras, aunque faltan estudios detallados sobre defectos de calidad, los productores artesanales reconocen empíricamente problemas como hinchazón de los quesos (por gas), sabor excesivamente ácido o amargo, y mohos o levaduras visibles en la superficie durante el almacenamiento. Todos estos fenómenos de deterioro están ligados al florecimiento de una microbiota no controlada por falta de tratamiento térmico. Por tanto, la inocuidad y calidad de los quesos artesanales hondureños se ven comprometidas en la medida en que no se implementen prácticas como la pasteurización, la higiene en la producción y el control microbiológico, lo cual refuerza la problemática a abordar (Geronikou et al. 2020).

2.5. Potenciales riesgos sensoriales y sanitarios vinculados a la proliferación de levaduras:

Dentro de los microorganismos que florecen en los quesos no pasteurizados, las levaduras merecen atención especial. Si bien muchas levaduras contribuyen positivamente al desarrollo del queso, su crecimiento excesivo puede provocar defectos sensoriales. Por ejemplo, poblaciones altas de levaduras en la superficie de ciertos quesos pueden causar

la formación de gas (CO₂), originando ojos o huecos indeseados y hasta hinchazón del empaque en quesos en salmuera. Este fenómeno de "soplado temprano" se ha atribuido a especies fermentadoras de lactosa como *Kluyveromyces lactis* o a levaduras contaminantes como *Dekkera anomala* (*Brettanomyces*), dependiendo de la microflora local (Bintsis 2021).

2.5.1. Conservación de la identidad sensorial y cultural del producto:

Los quesos artesanales de Olancho poseen perfiles sensoriales únicos –sabores, aromas y texturas– que los diferencian de los quesos industriales. Esta **típica identidad sensorial** está directamente ligada al microbiota autóctono presente en la leche cruda y en el entorno de producción. A diferencia de los quesos industriales, donde se emplean cultivos iniciadores estandarizados (generalmente bacterias puras), en los quesos tradicionales la flora nativa (bacterias y levaduras silvestres) lleva a cabo la fermentación y maduración, confiriéndoles características irrepetibles de acuerdo al terruño (Bintsis 2021).

En particular, las levaduras pueden producir compuestos aromáticos (alcoholes, ésteres, cetonas) que aportan matices de sabor difíciles de reproducir con cultivos comerciales (Bintsis 2021).

conocer la diversidad levaduriforme es sinónimo de salvaguardar el patrimonio gastronómico, dándole herramientas a los productores para diferenciar y valorizar sus quesos en mercados exigentes sin sacrificar la identidad cultural del producto (Enriquez et al. 2016).

2.6. Queso fresco:

Es un queso blanco no madurado, consumido apenas horas o días después de su elaboración. De acuerdo con la definición Codex/FAO, se trata de un queso listo para el consumo inmediatamente tras su fabricación. Se elabora coagulando leche (cruda en el ámbito artesanal) con cuajo, desuerando la cuajada y salando ligeramente. Tiene textura

blanda a semi-firme, es húmedo, fácilmente desmenuzable y de sabor suave, ligeramente ácido y salado.(RTCA 2017)

2.7. Queso semiseco:

También conocido como queso semi-curado o *semi duro*, es una especialidad de Olancho que resulta de un queso fresco sometido a un periodo breve de maduración o deshidratación. Tras la coagulación y moldeo, los bloques de queso se dejan orear y perder suero por varios días, incluso semanas, según la costumbre, lo que reduce su contenido de agua a un rango intermedio (44–55% de humedad, típico de quesos semi-maduros)(Manríquez et al. 2021).

2.8. Quesillo:

El quesillo es de color blanco, muy húmedo (similar a una mozzarella fresca), con sabor láctico suave y sal moderada. Es un queso de pasta hilada, fresco y elástico. Es típico de Honduras (y otros países centroamericanos) y se elabora calentando la cuajada en agua caliente para amasarla y estirla hasta formar una masa fibrosa que luego se enrolla en forma de bola o trenza (Pineda y Antonio 1998).

2.9. Variables tecnológicas que pueden influir en la flora levaduriforme:

2.9.1. Contenido de sal y método de salado:

La sal es un agente selectivo importante. En quesos salados en salmuera o con alto contenido de NaCl (como el queso seco, e incluso el semiseco en su costra), solo levaduras halotolerantes podrán sobrevivir, destacando *Debaryomyces hansenii* y ciertas *Candida* halófilas. Estudios han demostrado que las condiciones de la salmuera (concentración de sal, temperatura) influyen en qué levaduras predominen. Por ejemplo, a temperaturas bajas de maduración, las levaduras halófilas crecen mejor incluso con sal alta, mientras que a temperaturas más altas se favorece el crecimiento cuando la sal es menor. Así, un queso semiseco almacenado en bodega fresca podría desarrollar más levaduras halófilas que uno conservado en ambiente cálido(Bintsis 2021).

2.9.2. pH y acidez de la cuajada:

El nivel de acidez (pH) post-coagulación puede variar según la dosis de cultivo ácido-láctico (si se añade suero fermentado o se deja acidificar naturalmente). Las levaduras, en general, toleran ambientes ácidos mejor que muchos otros microorganismos: crecen bien en quesos jóvenes de pH ~4.5–5 donde las bacterias no lácticas ya no prosperan (Bintsis 2021).

2.10. Levaduras en productos lácteos desde una perspectiva tecnológica

Las levaduras representan un componente importante dentro de los ecosistemas microbianos de los productos lácteos, especialmente en aquellos elaborados sin pasteurización o bajo condiciones artesanales. Desde la Ingeniería de Alimentos, estas levaduras se clasifican como: **(a)** levaduras útiles o tecnológicas, que contribuyen al desarrollo de aroma, textura y maduración; **(b)** levaduras alterantes, asociadas a gasificación, sabores defectuosos y reducción de vida útil; y **(c)** levaduras oportunistas, cuyo hallazgo implica riesgo para la inocuidad del producto. Su capacidad de crecer en pH ácido, tolerar sal (NaCl), resistir refrigeración y metabolizar lactosa o lípidos les permite colonizar fácilmente los quesos artesanales, siendo indispensable su identificación para control microbiológico y diseño de procesos seguros (Bintsis, 2021).

2.11. Levaduras

2.11.1. Candida albicans:

Candida albicans es la principal levadura oportunista en humanos y posee factores de virulencia como formación de hifas, biofilm y secreción de enzimas proteolíticas. Estos atributos también favorecen su supervivencia en productos lácteos ricos en nutrientes. Su detección en quesos se asocia habitualmente a fallas higiénicas en la obtención o manipulación de la leche, más que a un papel tecnológico deseable. Aunque no suele dominar la microbiota, representa un riesgo potencial para consumidores inmunocomprometidos (Henriques & Silva, 2021; Bintsis, 2021).

2.11.2. Candida Famata:

Candida famata, también conocida como *Debaryomyces hansenii*, es una levadura halotolerante común en quesos madurados. Participa en la generación de aromas mediante lipólisis y metabolismo de aminoácidos, siendo considerada una levadura tecnológicamente útil. No obstante, se han reportado casos clínicos donde actúa como patógeno oportunista, lo cual exige monitorear sus niveles en productos lácteos de consumo directo (Bintsis, 2021).

2.11.3. Candida Kefyr:

Candida kefir se encuentra en leche y quesos, especialmente en productos fermentados de manera espontánea. Estudios recientes muestran que presenta patrones de resistencia antifúngica similares entre cepas clínicas y alimentarias, lo que la convierte en un patógeno emergente. Su crecimiento puede modificar perfiles sensoriales y causar fermentaciones indeseadas si no se mantiene bajo control (Zareshahrabadi et al., 2024).

2.11.4. Candida krusei

Candida krusei (teleomorfa *Pichia kudriavzevii*) es resistente al fluconazol y tolerante al pH ácido, condiciones que favorecen su supervivencia en quesos frescos. Se considera principalmente un contaminante capaz de generar sabores amargos y defectos fermentativos. Además, está asociada a mastitis bovina y candidemias humanas, por lo que su detección en alimentos representa un riesgo de salud pública (Du et al., 2018; Bintsis, 2021).

2.11.5. Candida metapsilosis

Candida metapsilosis pertenece al complejo *C. parapsilosis* y se caracteriza por formar biofilm y persistir en superficies de procesado. Aunque es menos virulenta que *C. parapsilosis*, su capacidad de colonizar equipos y ambientes lácteos favorece la

recontaminación del queso artesanal, especialmente cuando no existen protocolos higiénicos estrictos (Németh et al., 2013; Bintsis, 2021).

2.11.6. *Candida pararugosa*

Candida pararugosa se detecta en alimentos fermentados y ambientes lácteos como contaminante ambiental. Posee tolerancia al pH ácido y a bajas actividades de agua, lo que le permite sobrevivir en quesos frescos y madurados. Aunque su patogenicidad es baja, se han documentado infecciones oportunistas en humanos, lo cual exige precaución en productos destinados a poblaciones vulnerables (Buch & Seiler, 2011).

2.11.7. *Candida parapsilosis*

Candida parapsilosis es un patógeno relevante tanto en humanos como en animales. Se ha aislado de casos de mastitis bovina, demostrando su capacidad para entrar en la cadena láctea a través de la leche cruda. En quesos, puede actuar como levadura alterante y sobrevivir a condiciones de salinidad y acidez, requiriendo vigilancia en procesos artesanales (Du et al., 2018; Bintsis, 2021).

2.11.8. *Candida tropicalis*

Candida tropicalis destaca por su virulencia, capacidad de formar biofilm y creciente resistencia antifúngica. En alimentos se considera un contaminante que puede generar defectos sensoriales y fermentaciones no deseadas. Su hallazgo en quesos frescos es un indicador de contaminación humana o ambiental, y su control forma parte de las buenas prácticas de manufactura (Büchl & Seiler, 2011; Bintsis, 2021).

2.11.9. *Candida zeylanoides*

Candida zeylanoides es psicotrofa y lipolítica, con capacidad para crecer en leche refrigerada y quesos de leche cruda. Puede aportar aromas característicos mediante lipólisis moderada, pero también causar rancidez y defectos si prolifera en exceso. Es frecuente en quesos artesanales de montaña o zonas frías (Panelli et al., 2013; Bintsis, 2021).

2.11.10. Cyberlindnera fabianii

Cyberlindnera fabianii aparece en fermentaciones y alimentos azucarados, pero también se reconoce como un patógeno oportunista capaz de causar fungemias. Su detección en quesos implica contaminación por levaduras fermentativas no convencionales, que deben ser cuidadosamente monitoreadas en productos de consumo inmediato (Arastehfar et al., 2017).

2.11.11. Pichia norvegensis

Pichia norvegensis es una levadura alterante que puede causar hinchamiento, producción de gas y sabores desagradables en quesos. Su tolerancia al ácido y la sal le permite competir con bacterias ácido lácticas, afectando la fermentación natural de los quesos artesanales (Büchl & Seiler, 2011).

2.11.12. Saccharomyces cerevisiae

Saccharomyces cerevisiae es la levadura más utilizada en biotecnología. En quesos puede actuar como cultivo auxiliar, aportando complejidad aromática e interactuando con mohos maduradores. También se investiga como probiótico en productos lácteos debido a su capacidad de producir metabolitos funcionales (Parapouli et al., 2020; Hansen, 2001).

2.11.13. Trichosporon asahii

Trichosporon asahii es la especie más importante del género debido a su potencial para causar infecciones invasivas. En alimentos su presencia indica contaminación ambiental, ya que esta levadura puede sobrevivir en superficies húmedas y formar biofilm si las condiciones de limpieza no son adecuadas (Kourti & Roilides, 2022).

2.11.14. Trichosporon faecale

Trichosporon faecale es una especie rara pero asociada a infecciones graves en pacientes inmunodeprimidos. Su detección en quesos artesanales no implica peligro inmediato para consumidores sanos, pero sí indica deficiencias higiénicas en la etapa de postprocesamiento (Fallahi et al., 2012; Pérard et al., 2015).

2.11.15. Trichosporon japonicum

Trichosporon japonicum fue descrita inicialmente en muestras ambientales y posteriormente en fungemias humanas. En alimentos se interpreta como contaminación accidental, por lo que su hallazgo en quesos exige evaluar ventilación, manipulación y limpieza de cámaras de maduración (Sugita et al., 1998; Albitar-Nehme et al., 2022).

2.11.16. Trichosporon loubieri

Trichosporon loubieri causa infecciones invasivas en pacientes con neoplasias hematológicas. Aunque rara en alimentos, su detección demuestra la entrada de levaduras oportunistas desde el ambiente hacia la cadena productiva, indicando la necesidad de reforzar la bioseguridad (Gabriel et al., 2011; Bhaskaran et al., 2016).

2.12. Factores que determinan la sucesión y dominancia de levaduras:

2.12.1. pH (acidez):

Como se mencionó, las levaduras toleran medios ácidos donde otras bacterias ya no crecen bien. Un queso recién coagulado puede tener pH ~6.5; tras unas horas de fermentación láctica baja a ~5.0. En ese entorno ácido inicial (pH 4.5–5.5), las levaduras tienen ventaja competitiva sobre bacterias no acidúricas (Mansour et al. 2008).

Este aumento de pH, a su vez, habilita la actividad de microorganismos proteolíticos (bacterias de maduración, mohos) que liberan aminoácidos; luego las levaduras metabolizan aminoácidos liberando amoníaco, elevando más el pH (Mansour et al. 2008).

2.12.2. Concentración de sal (NaCl):

La sal añadida al queso (en la cuajada o en salmuera) es un factor selectivo fuerte. Muchas levaduras lácteas toleran niveles moderados de sal, pero pocas toleran sal elevada. *Debaryomyces hansenii* es renombrada por crecer hasta en 15% NaCl, siendo común en quesos muy salados como Feta o queso en salmuera concentrada. Otras como *Kluyveromyces* aguantan sal baja ($\leq 5\%$) pero disminuyen en medios más salinos. Entonces, tras el salado, es normal ver un cambio: en quesos frescos sin mucho NaCl pueden dominar *Kluyveromyces/Candida*, mientras que tras unos días en salmuera sube la proporción de *Debaryomyces*. Adicionalmente, la salmuera en sí es un hábitat microbiológico (Fröhlich-Wyder et al. 2019).

2.12.3. Temperatura:

Influye tanto durante la producción (e.g., calentamiento del cuajo en quesillo) como en el almacenamiento. Muchas levaduras de queso son mesófilas, creciendo rápido a $\sim 20\text{--}25^\circ\text{C}$, pero otras son psicrótrofas y se multiplican a $4\text{--}10^\circ\text{C}$. En quesos mantenidos sin refrigeración, la flora levaduriforme se desarrollará más con rapidez, pero posiblemente por menos tiempo (consumen sustratos velozmente y compiten entre sí). En refrigeración, el crecimiento es lento pero continuo, permitiendo que a las semanas se alcancen recuentos significativos incluso a 4°C (de ahí que quesos frescos guardados largos periodos en frío puedan estropearse por levaduras). *Candida sake* y *Rhodotorula mucilaginosa* son ejemplos de levaduras reportadas en quesos refrigerados (Fröhlich-Wyder et al. 2019).

2.13. Aislamiento en medios selectivos y enumeración ($\log \text{CFU g}^{-1}$):

El primer paso para estudiar las levaduras en quesos es su aislamiento mediante técnicas de cultivo microbiológico. Comúnmente se emplean medios selectivos para hongos y levaduras que contienen antibióticos para inhibir bacterias (por ejemplo, Agar Papa Dextrosa –PDA– con cloranfenicol, o Agar Sabouraud con antibiótico). Muestras de queso se homogenizan y realizan diluciones seriadas, que luego se siembran en placas de estos medios, incubándose a temperatura ambiente o 25°C por varios días. Tras la

incubación, se cuentan las colonias de levaduras emergentes y se expresan los resultados en log UFC por gramo de queso. En estudios previos de quesos artesanales hondureños, se encontraron recuentos de levaduras entre $10^{3.5}$ y $10^{8.0}$ CFU/g, con una media alrededor de $10^{5.1}$ CFU/g(Enriquez et al. 2016).

Una vez aisladas, las colonias de levaduras se repican (subcultivan) para obtener cultivos puros. En la práctica, se seleccionan colonias con diferentes morfologías (color, forma, tamaño) para asegurar aislar la diversidad presente. Estas colonias puras servirán para la identificación por métodos clásicos o moleculares posteriores(Enriquez et al. 2016).

2.14. MALDI-TOF MS

La espectrometría de masas MALDI-TOF MS es una técnica rápida y precisa para identificar levaduras a nivel de especie. Funciona generando perfiles proteicos únicos comparables con bases de datos específicas. Se ha vuelto esencial en microbiología clínica por su velocidad y exactitud superior a métodos convencionales. Es útil para diferenciar especies estrechamente relacionadas, como las del complejo *Candida parapsilosis*. Su uso rutinario ha reducido significativamente los tiempos de diagnóstico. La calidad de sus resultados depende de bases de datos bien actualizadas. Es eficiente, rentable y mejora la atención al paciente. Su continua mejora asegura su vigencia en laboratorios clínicos modernos(Chen et al. 2016).

2.14.1. Diseño experimental

Las investigaciones sobre levaduras en quesos artesanales suelen enmarcarse dentro de un diseño experimental de tipo descriptivo y transversal, dado que su objetivo principal es caracterizar la presencia, diversidad y carga microbiana sin manipular variables independientes. Este tipo de enfoque permite recolectar muestras representativas de quesos de diferentes tipos o regiones y realizar análisis microbiológicos detallados para cuantificar e identificar las levaduras presentes. La literatura científica señala que los quesos artesanales presentan una amplia diversidad de especies levaduriformes asociadas a los procesos de fermentación y a las condiciones artesanales de elaboración, lo que

reafirma la pertinencia de emplear diseños descriptivos para su caracterización microbiológica (Cámara et al., 2024).

De acuerdo con la evidencia reciente, el estudio de la microbiota fúngica en productos lácteos artesanales requiere enfoques observacionales que permitan describir la diversidad natural de los microorganismos presentes. Por ejemplo, un estudio realizado por Huerta-Jiménez et al. (2022) empleó un diseño observacional para evaluar la diversidad de levaduras en quesos tipo quesillo mediante cultivo en medio YEPG, seguido de identificación por espectrometría MALDI-TOF MS, revelando una alta prevalencia de especies como *Kluyveromyces marxianus* y *Candida* spp., asociadas tanto a procesos fermentativos como a deterioro del producto (Huerta-Jiménez et al., 2022).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. Descripción del área de investigación

La investigación, se realizó en la Universidad Federal de Lavras, ubicada en la ciudad de Lavras, Minas Gerais, Brasil, específicamente en el Departamento de Ciencias de los alimentos en el laboratorio de micología y micotoxilogia de alimentos estos laboratorios cuentan con infraestructura y equipamiento adecuados para el aislamiento, cultivo e identificación de microorganismos.

3.2. Materiales y equipo

Tabla 1: Materiales y equipos

Materiales	Equipos
Bolsas estériles	Balanza analítica
Caja térmica	Termómetro
Cuchillo de acero inoxidable	Matraz de 250 mL
Bolsas Stomacher	Beaker de 500 mL
Palillos de madera estériles	Autoclave
Pipetas de 1mL y de 0.1ml	Incubadora
Tubos de ensayo de 10 mL	Horno de secado
Placas Petri autoclavables	Mechero Bunsen
Botes de vidrio de 500 mL	Capela o cabina de flujo laminar
Tubos Eppendorf	Ultrafreezer
Guantes de látex y mascarilla	Microscopio óptico
Probetas de 100 mL y 1000 mL	

3.3. Muestreo

La recolección de muestras se realizó en el departamento de Olancho, Honduras, una región reconocida por su importancia en la producción de quesos artesanales. Las muestras se obtuvieron en tres zonas representativas: Catacamas, Culmí y Jutiquiles, seleccionadas por su relevancia en la elaboración de productos lácteos tradicionales y por conservar métodos de procesamiento artesanal característicos de la región.

En cada zona se recolectaron muestras de tres tipos de queso artesanal de consumo común. Las muestras fueron tomadas directamente de los lotes de producción, siguiendo prácticas de higiene adecuadas para evitar contaminación cruzada. Posteriormente, se colocaron en recipientes estériles, se etiquetaron debidamente y se transportaron en condiciones de refrigeración (4 ± 2 °C) hasta el laboratorio correspondiente, donde fueron analizadas para la identificación y caracterización de la microbiota de levaduras presente en los productos evaluados. Se obtuvieron nueve muestras en total, una por tipo de queso en cada planta de procesamiento.

Tabla 2: Clasificación de las muestras recolectadas según región y variedad de queso

Región	Número de muestra (Lbs)	Codificación de las muestras	Tipo de muestra
Catacamas	1	C1	Queso fresco
	1	C2	Queso semi seco
	1	C3	Quesillo
Culmí	1	A1	Queso fresco
	1	A1	Queso semi seco
	1	A1	Quesillo
Jutiquiles	1	B1	Queso fresco
	1	B2	Queso semi seco
	1	B3	Quesillo

Cada tipo de queso fue considerado como una unidad experimental individual. En cada una de las tres plantas procesadoras seleccionadas se adquirió una libra de cada tipo de queso, para un total de nueve libras de muestra utilizadas en el estudio (3 tipos de queso $\times$ 3 plantas $\times$ 1 lb).

Esta cantidad resultó suficiente para la realización de los análisis requeridos, incluyendo las repeticiones y siembras selectivas necesarias para la evaluación de la microbiota de levaduras presente en los diferentes tipos de queso artesanal.

Métodos

3.4. Procedimiento experimental para levaduras:

3.4.1. Preparación y homogeneización de las muestras.

En el laboratorio, se procedió a la homogeneización de 10 gramos de cada muestra de queso con 90 mL de solución salina fisiológica estéril al 0.85 %, obteniéndose una dilución inicial 10^{-1} . A partir de esta, se realizaron diluciones seriadas decimales hasta 10^{-6} , con el fin de asegurar la obtención de cultivos contables. Las alícuotas de las diluciones fueron sembradas por vertido o estriado en placa en medios selectivos para levaduras, tales como Yeast Extract Peptone Glucose Agar (YEPG) acidificado (pH 3.5) o Agar Sabouraud con cloranfenicol, de acuerdo con protocolos estandarizados para hongos en productos lácteos (Tang et al. 2022). La incubación se realizó a 28 °C durante 48–72 horas en estufa BOD.

3.4.2. Aislamiento de levaduras.

Las colonias con morfología típica de levaduras (cremosas, opacas, lisas o rugosas) fueron seleccionadas y purificadas por resiembra en medio YEPG. El número de colonias seleccionadas se determinó aplicando la técnica de la raíz cuadrada del número total de unidades formadoras de colonias (UFC) obtenidas por muestra, tal como ha sido

reportado en estudios de diversidad fúngica en quesos artesanales (Saremnezhad et al. 2021)

3.4.3. Identificación de levaduras mediante MALDI-TOF MS.

Las colonias puras fueron sometidas a identificación taxonómica mediante espectrometría de masas MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization – Time of Flight), técnica que permite la discriminación de levaduras hasta nivel de especie en pocos minutos. La preparación consistió en el tratamiento de la biomasa con ácido fórmico al 70 % y acetonitrilo, seguido se aplicó en placa con matriz de ácido α -ciano-4-hidroxicinámico (CHCA), como lo describe (Afzal et al. 2015). El análisis se realizó en un espectrómetro calibrado con cepas estándar (como *Escherichia coli* K12), y los espectros obtenidos se compararon con las bases de datos del software MALDI Biotyper (Bruker Daltonics). Esta metodología ha sido validada en microbiología alimentaria como una herramienta confiable, rápida y de alta resolución para la identificación de levaduras en quesos.(Huerta-Jimenez et al. 2022)

3.4.4. Caracterización funcional preliminar de levaduras.

Además de la identificación taxonómica, se llevó a cabo la caracterización fenotípica de las cepas de levaduras mediante pruebas funcionales y bioquímicas. Se determinó el potencial tecnológico de las cepas, especialmente su capacidad de crecer en condiciones lácteas y su posible producción de compuestos volátiles que influyen en el perfil sensorial del queso.(Afzal et al. 2015) señalaron que especies como *Kluyveromyces marxianus* y *Candida parapsilosis* han mostrado actividad lipolítica y proteolítica, contribuyendo al desarrollo de sabor en quesos artesanales. Esta caracterización permitió discriminar entre levaduras tecnológicamente útiles y aquellas que pueden representar riesgo por deterioro o alteración.

3.5. Análisis de datos

Los datos microbiológicos obtenidos fueron procesados mediante estadística descriptiva utilizando frecuencias relativas, medias y desviaciones estándar para los recuentos de UFC/g por tipo de queso. Se evaluó la frecuencia de aparición de cada género y especie de levadura entre los tipos de queso y regiones de procedencia. La información estadística fue presentada mediante tablas y gráficos elaborados en Excel y procesadores estadísticos básicos, este enfoque permite identificar patrones ecológicos y tecnológicos relevantes para mejorar la calidad microbiológica de productos lácteos artesanales (Huerta-Jimenez et al. 2022).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Recuento de levaduras en las muestras

Tabla 3: Población de levaduras de las muestras de queso ($\log(x+1)$ UFC·g⁻¹)

Muestra	$(\log(x+1) \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1})$	
	Medio YEPG	Medio DRBC
C1	$0.78 \pm 0.14\text{B}^{\text{a}}$	$0.40 \pm 0.10\text{C}^{\text{a}}$
C2	$0.60 \pm 0.12\text{C}^{\text{a}}$	$0.32 \pm 0.08\text{C}^{\text{a}}$
C3	$0.05 \pm 0.04\text{C}^{\text{b}}$	$0.00 \pm 0.00\text{C}^{\text{b}}$
A1	$0.90 \pm 0.15\text{B}^{\text{a}}$	$0.55 \pm 0.12\text{B}^{\text{a}}$
A2	$0.70 \pm 0.13\text{B}^{\text{a}}$	$0.30 \pm 0.09\text{C}^{\text{a}}$
A3	$0.00 \pm 0.00\text{C}^{\text{b}}$	$0.00 \pm 0.00\text{C}^{\text{b}}$
B1	$1.38 \pm 0.18\text{A}^{\text{a}}$	$0.88 \pm 0.14\text{A}^{\text{b}}$
B2	$1.52 \pm 0.20\text{A}^{\text{a}}$	$1.02 \pm 0.15\text{A}^{\text{b}}$
B3	$1.25 \pm 0.16\text{A}^{\text{a}}$	$0.84 \pm 0.13\text{A}^{\text{b}}$

Los valores promedio en la misma columna con diferentes letras mayúsculas y minúsculas en superíndice difieren estadísticamente ($p < 0.05$) con respecto a las muestras y a los medios de cultivo, respectivamente.

Los datos originales de unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g) fueron transformados aplicando la función $\log(x + 1)$ con el objetivo de normalizar la distribución de los datos y cumplir y la homogeneidad de varianza requeridos para el análisis de varianza.

4.2. Levaduras identificadas

Tabla 4: Perfil de levaduras identificadas en muestras de quesos por región de muestreo

LEVADURAS	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3
<i>Candida albicans</i>	-	3	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida famata</i>	4	1	-	22	22	8	-	-	-
<i>Candida kefyr</i>	0	-	-	-	1	-	2	-	-
<i>Candida krusei</i>	6	18	-	-	9	15	9	14	-
<i>Candida metapsilosis</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	-
<i>Candida paragurosa</i>	4	-	-	-	-	-	1	-	-
<i>Candida parapsilosis</i>	10	-	-	2	2	-	1	17	-
<i>Candida tropicalis</i>	3	-	-	4	1	7	4	-	-
<i>Candida zeylanoides</i>	-	-	-	-	1	-	0	-	-
<i>Cyberlindnera fabianii</i>	-	-	-	1	3	-	1	-	-
<i>Pichia norvegenensis</i>	2	-	-	-	-	-	3	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1	-	-	1	-	-	-	-	-
<i>Trichosporon asahii</i>	-	-	-	-	-	-	1	-	-
<i>Trichosporon faecale</i>	-	2	-	-	-	-	-	1	-
<i>Trichosporon japonicum</i>	-	-	-	3	-	-	-	-	-
<i>Trichosporon loubieri</i>	-	-	-	-	-	-	-	1	-
Total, de aislamiento	30	24	-	33	40	30	22	33	-

En general, las muestras evaluadas mostraron una alta variabilidad en la presencia y distribución de levaduras entre localidades y tipos de quesos, reflejando diferencias microbiológicas propias de cada zona de producción. Las especies más frecuentes fueron *Candida famata*, *Candida krusei* y *Candida parapsilosis*, las cuales concentraron la mayor parte de los aislamientos totales, particularmente en las muestras provenientes de la región (B1, B2 y B3), que registraron los recuentos más elevados con 33, 40 y 30 aislamientos, respectivamente.

En contraste, algunas muestras como A3(queso semiseco) y C3(queso semiseco) no presentaron crecimiento detectable para ninguna de las especies evaluadas, indicando condiciones de elaboración o conservación más controladas o menos favorables para el desarrollo de levaduras. Asimismo, especies como *Candida metapsilosis*, *Candida zeylanoides* y *Trichosporon* spp. aparecieron de manera esporádica, lo que sugiere una distribución menos común o asociada a factores puntuales de contaminación o variabilidad ambiental.

De manera general los resultados muestran que (B1, B2, B3) fue la región con mayor diversidad y abundancia de levaduras, mientras que las regiones (A1, A2, A3) y (C1, C2, C3) presentaron cargas más bajas y distribuciones más específicas. Estos patrones reflejan diferencias en las prácticas de elaboración, higiene, y condiciones de almacenamiento propias de cada región, siendo factores determinantes en la presencia y proliferación de levaduras en productos lácteos artesanales.

4.2.1. Queso fresco de la región de A1

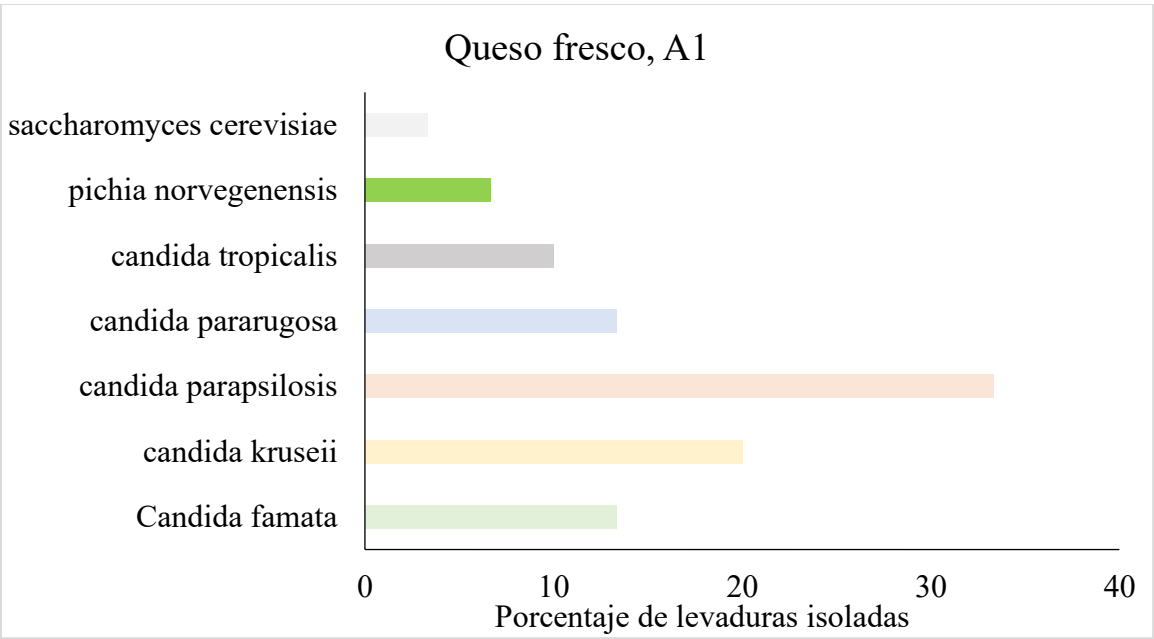


Figura 1: Distribución porcentual de las levaduras identificadas en queso fresco artesanal elaborado en la región A1, Olancho.

En el queso fresco elaborado en A1 se observó que la levadura predominante fue *Candida parapsilosis* (33,33 %), seguida de *C. krusei* (20 %), mientras que *C. famata* y *C. pararugosa* mostraron porcentajes intermedios. Además, se detectaron otras especies en menor proporción, como *C. tropicalis*, *Pichia norvegensis* y *Saccharomyces cerevisiae*. En conjunto, este perfil reveló una microbiota dominada por levaduras oportunistas, aunque con presencia moderada de especies favorables para la calidad del queso. Estos resultados indican que la microbiota estuvo fuertemente influenciada por la leche cruda y por las condiciones ambientales presentes durante la producción (Dishan et al., 2025).

A pesar de que varias de las especies detectadas se asocian más a deterioro que a beneficio tecnológico, la presencia de *C. famata* resulta especialmente relevante, ya que esta levadura ha sido ampliamente documentada por su capacidad para mejorar el aroma, modular el contenido de sal y participar en la maduración superficial de quesos (Büchl & Seiler, 2011). Aunque *S. cerevisiae* se encontró en cantidades bajas, su participación es positiva debido a su capacidad de producir ésteres y alcoholes superiores que contribuyen a perfiles aromáticos interesantes (Parapouli et al., 2020).

Al comparar estos resultados con los reportados en la literatura, se evidenció una fuerte similitud con estudios de quesos tradicionales en los que prevalecen *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. krusei* como parte habitual de la microbiota en productos elaborados con leche cruda (Dishan, 2025; Fadhl et al., 2016).

4.2.2. Queso fresco de la región de B1

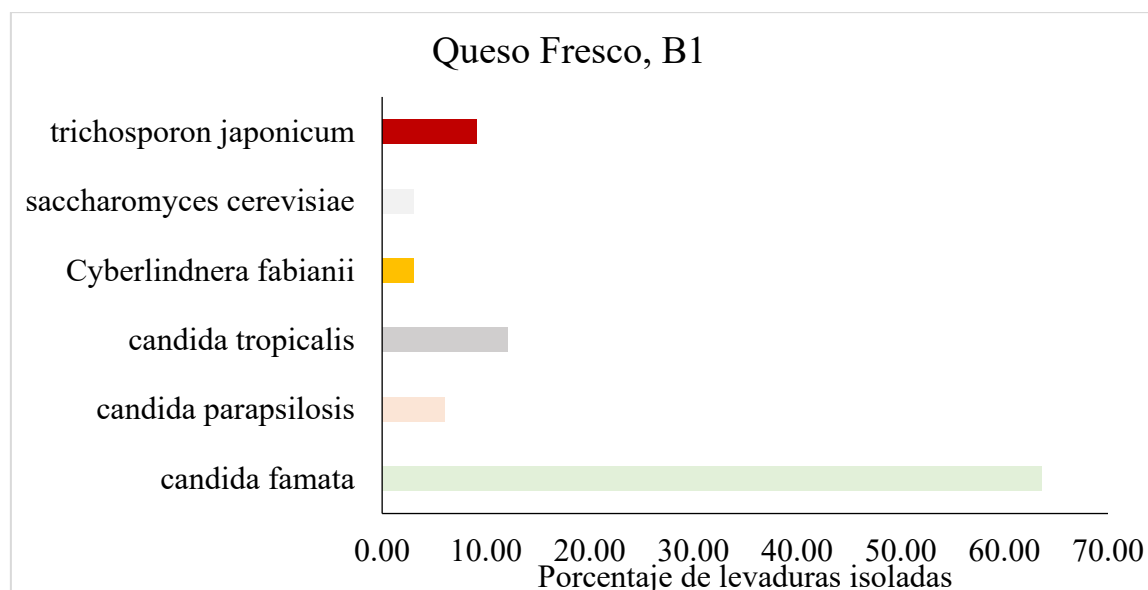


Figura 2: Distribución porcentual de las levaduras identificadas en queso fresco artesanal elaborado en la región B1, Olancho.

En el queso fresco producido en la región B1, el comportamiento de la microbiota resultó bastante distinto. *Candida famata* representó más del 60 % de los aislamientos, mientras que *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *S. cerevisiae*, *Cyberlindnera fabianii* y *Trichosporon japonicum* se encontraron en proporciones menores. El patrón observado indicó una microbiota más estable y menos afectada por levaduras oportunistas, lo cual podría

atribuirse a una leche con menor carga microbiana inicial o a condiciones ambientales más controladas durante la elaboración.

Desde un enfoque tecnológico, este queso presentó resultados sumamente valiosos, ya que *C. famata*/*D. hansenii* es una de las levaduras más relevantes en la industria quesera. Se ha demostrado que esta especie contribuye de manera significativa al desarrollo del aroma, la degradación de lactato y la estabilidad en quesos salados y de maduración superficial (Breuer & Harms, 2006; Ramos-Moreno et al., 2021). Además, la presencia de *S. cerevisiae* y *Cy. fabianii*, aunque en niveles bajos, constituye un aporte adicional al perfil aromático, ya que estas levaduras producen compuestos volátiles beneficiosos.

Al comparar estos resultados con estudios similares, se observó que la dominancia de *D. hansenii* coincide con investigaciones en quesos artesanales europeos y latinoamericanos, donde esta levadura se identifica como especie clave en entornos de alta humedad y salinidad variable (Panelli et al., 2013; Commenges et al., 2024). Asimismo, la presencia minoritaria de *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* se asemeja a lo reportado en quesos blancos de Turquía (Özmen Togay et al., 2020).

En cuanto a la correlación con el resto de los quesos, La región B1 se posicionó con el perfil más favorable desde la ingeniería de alimentos. A diferencia de la región A1 y C1, donde predominan levaduras oportunistas, B1 destacó por albergar levaduras tecnológicamente útiles, lo que podría orientarse a futuras aplicaciones como selección de cultivos iniciadores propios de la región.

4.2.3. Queso fresco de la región de C1.

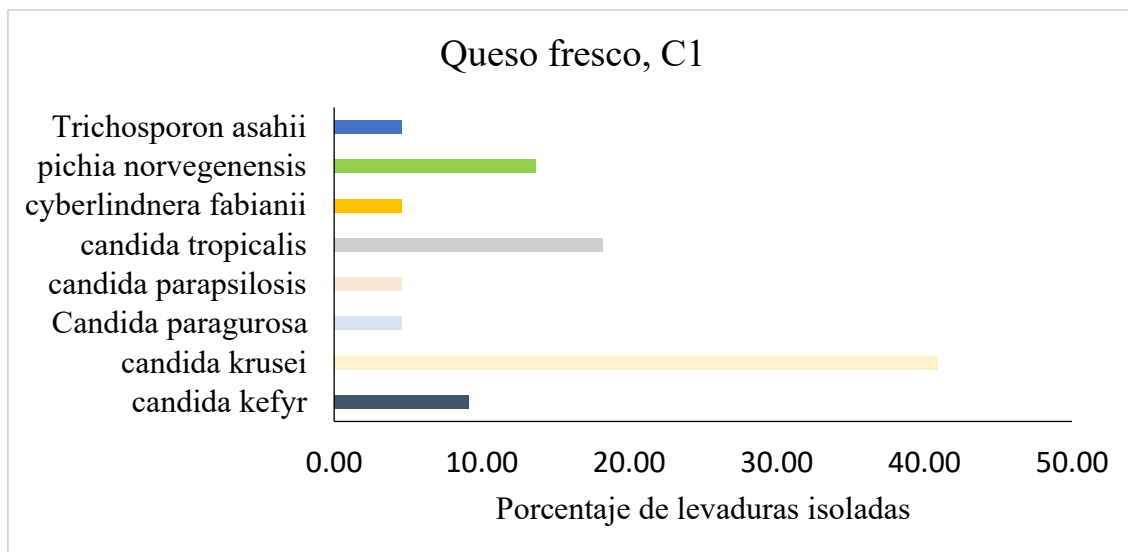


Figura 3: Distribución porcentual de las levaduras identificadas en queso fresco artesanal elaborado en la región C1, Olancho.

En el queso fresco proveniente de la región C1 se observó un perfil más diverso y equilibrado. *C. krusei* fue la especie dominante (40,9 %), seguida de *C. tropicalis* (18,2 %), *Pichia norvegensis* (13,6 %) y *C. kefyr* (9,1 %), mientras que el resto de levaduras apareció en porcentajes mínimos. Este comportamiento reflejó una mezcla de especies oportunistas y levaduras con potencial funcional, lo que sugiere una fermentación influenciada tanto por la leche cruda como por factores ambientales (Baraggio et al., 2017).

Es importante destacar que *C. kefyr* y *P. norvegensis* poseen funciones tecnológicas interesantes. *C. kefyr* es conocida por su capacidad fermentativa en productos lácteos y su actividad β -galactosidasa, lo que puede contribuir a notas sensoriales lácticas y frutales (Ianieva, 2013). Por su parte, *P. norvegensis* ha sido documentada como levadura bioprotectora capaz de reducir *Listeria monocytogenes* en quesos madurados (Goerges et al., 2011), representando una posible herramienta para mejorar la inocuidad alimentaria.

Cuando se comparó este queso con estudios. Se encontró que su perfil microbiano coincide con reportes de quesos blancos y semi-duros en Turquía y Europa, donde *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. kefyr* y *Pichia* spp. forman parte habitual de la microbiota láctea (Gelen, 2021; de Melo Pereira et al., 2022). Esto confirma que el queso fresco de C1 se alinea con los estándares de productos artesanales con fermentación espontánea.

Finalmente, al correlacionar el queso C1 con las otras regiones, se observó que comparte con el queso A1 una fuerte presencia de levaduras oportunistas, aunque su diversidad microbiana es mayor y refleja potencial funcional en comparación con esta última. Sin embargo, difiere claramente de B1, donde la microbiota muestra una tendencia más tecnológica.

4.2.4. Quesillo de la región de A2

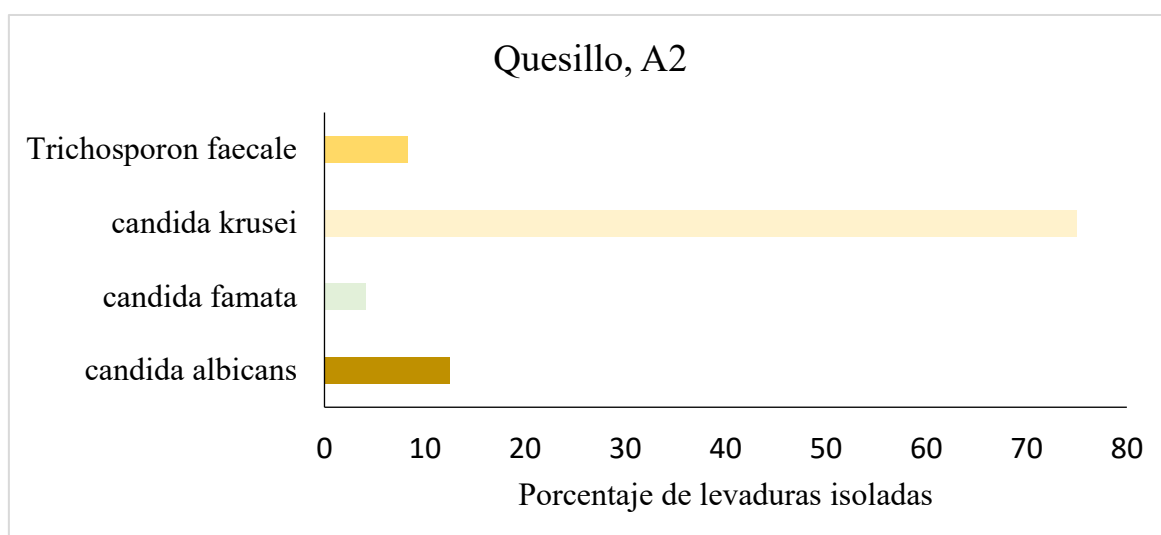


Figura 4: Distribución porcentual de las levaduras identificadas en quesillo artesanal elaborado en la región A2, Olancho.

En el quesillo elaborado en A2, la microbiota estuvo dominada casi exclusivamente por especies oportunistas. *C. krusei* alcanzó aproximadamente el 75 %, seguida de *C. albicans* y *Trichosporon faecale*, mientras que *C. famata* se detectó en muy baja cantidad. Este patrón indicó condiciones higiénicas deficientes o contaminación directa desde la leche cruda.

Desde el enfoque tecnológico, los aportes positivos fueron limitados. Aunque *C. famata* estuvo presente, su proporción fue insuficiente para contribuir significativamente al aroma o la funcionalidad. En cambio, el predominio de *C. krusei* y *C. albicans* se asocia

a deterioro, gasificación y riesgo sanitario, más que a beneficios tecnológicos (de Melo Pereira et al., 2022).

Estos resultados coincidieron con investigaciones en quesos artesanales elaborados sin pasteurización, donde *C. krusei* suele dominar en productos con baja higiene (Dishan, 2025). A su vez, la presencia de *Trichosporon* como contaminante ambiental también está documentada en quesos blandos y frescos (Commenges et al., 2024).

Al correlacionar A2 con las demás regiones, esta zona mostró el perfil menos favorable. A diferencia de la región B2, donde predominaron levaduras tecnológicas, la región A2 presentó la mayor carga de especies oportunistas, lo que evidencia la necesidad de mejorar prácticas sanitarias.

4.2.5. Quesillo de la región de B2

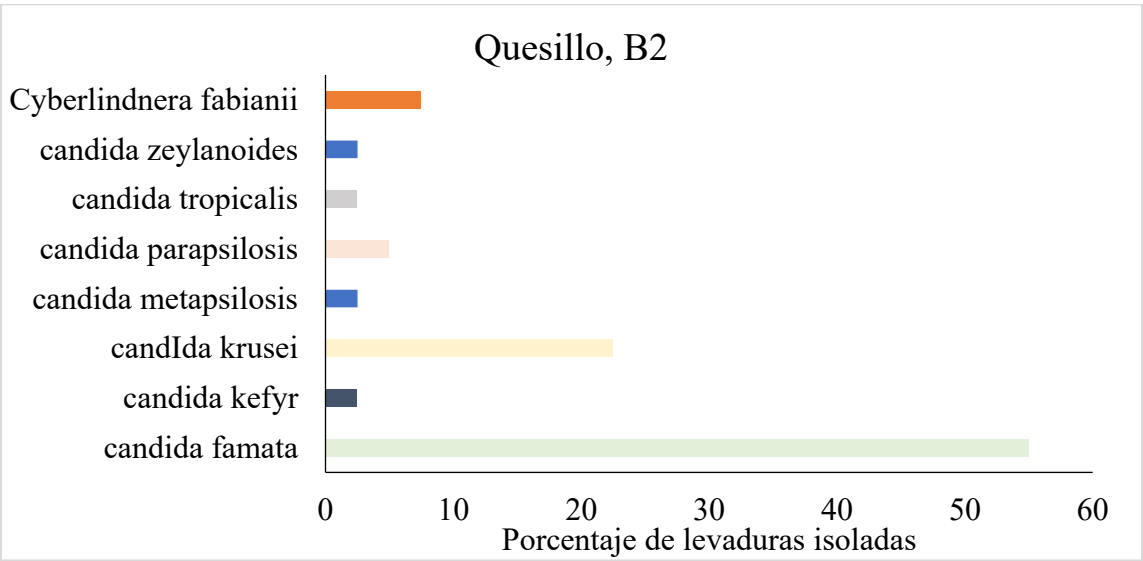


Figura 5: Distribución porcentual de las levaduras identificadas en quesillo artesanal elaborado en la región B2, Olancho.

El quesillo de la región B2, Mantuvo la tendencia observada en los productos frescos de esta región. *C. famata* fue la especie dominante (55 %), seguida por *C. krusei* (22,5 %), mientras que el resto de levaduras se encontraron proporciones bajas. La humedad alta y

la estructura fibrosa del quesillo favorecieron una microbiota estable dominada por levaduras tecnológicas.

Desde el punto de vista funcional, este quesillo mostró el perfil más favorable de todo el estudio. *C. famata*/*D. hansenii* es una levadura esencial para el desarrollo de sabores complejos, especialmente en quesos de pasta hilada, y contribuye tanto a la modulación del sabor como a la estabilidad del producto (Ramos-Moreno et al., 2021). Además, la presencia de *C. kefir* y *C. zeylanoides*, aunque minoritaria, coincide con su rol aromatizante documentado en quesos artesanales (Gelen, 2021).

Comparando con la literatura, los resultados coincidieron plenamente con estudios en quesos artesanales y en salmuera, donde *D. hansenii* aparece como levadura dominante y se acompaña de especies de *Candida* en proporciones menores (Panelli et al., 2013; Corbo et al., 2001). Esto demuestra que el quesillo de la región B2 exhibe una microbiota típica de productos tradicionales con fermentación controlada de manera natural.

Al correlacionar este quesillo con todas las regiones, B2 se consolidó como la región con mejor equilibrio entre inocuidad y funcionalidad. Tanto en frescos como en quesillo, predominó *C. famata*, lo cual contrasta con A2 y C2, donde prevalecen levaduras oportunistas.

4.2.6. Quesillo de la región de C2

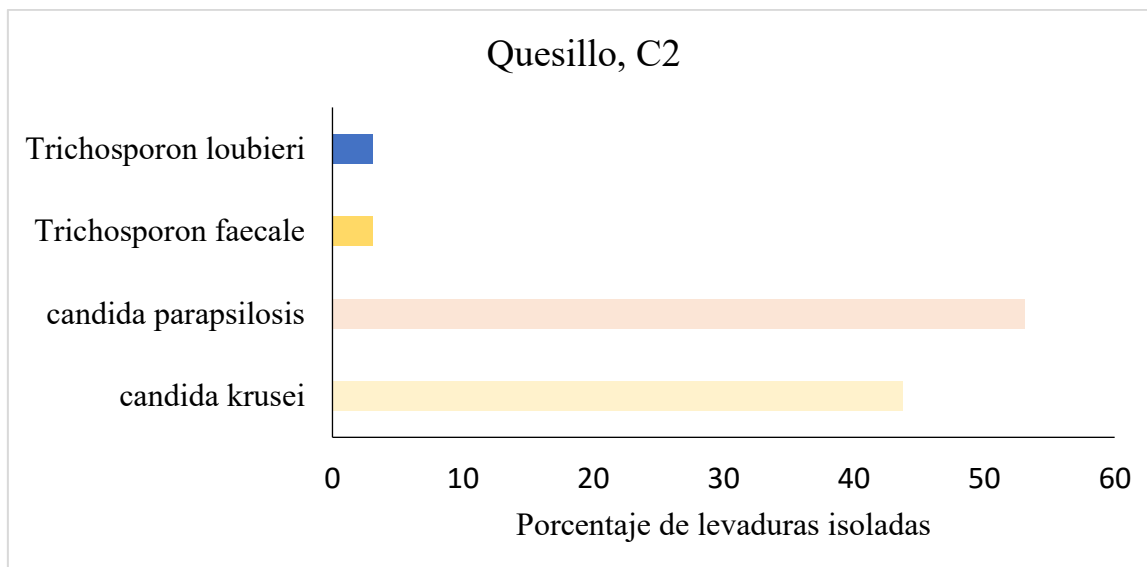


Figura 6: Distribución porcentual de las levaduras identificadas en quesillo artesanal elaborado en la región C2, Olancho

El quesillo proveniente de la región C2 presentó un perfil muy concentrado: *C. parapsilosis* fue la especie predominante (53,1 %), seguida por *C. krusei* (43,8 %), mientras que *Trichosporon faecale* y *T. loubieri* aparecieron en proporciones mínimas. La microbiota estuvo compuesta principalmente por levaduras de riesgo clínico.

Si bien algunas especies de *Candida* pueden contribuir de forma limitada a procesos fermentativos, en este caso el predominio de *C. parapsilosis* y *C. krusei* se asocia más a mastitis y contaminación ambiental que a aportes tecnológicos (Du et al., 2018). Por lo tanto, este quesillo se interpretó como un producto donde predominan levaduras indicadoras de riesgo clínico.

Comparado con otros trabajos científicos, el perfil se asemejó a estudios en quesos elaborados con leche de vacas con mastitis micótica, donde *C. parapsilosis* y *C. krusei* fueron las especies más frecuentes (Du et al., 2018; Fadhl et al., 2016). Asimismo, estudios en quesos en salmuera confirman que estas levaduras son típicas en sistemas con pobre higiene (Ermenlieva et al., 2025).

Finalmente, al correlacionar la región de C2 con todas las regiones, se posicionó como un punto intermedio: más favorable que A2, pero con menos funcionalidad que B2. Esto

demuestra cómo las condiciones artesanales específicas influyeron directamente en la microbiota final de cada producto.

4.2.7. Queso semi-seco de la región de B3

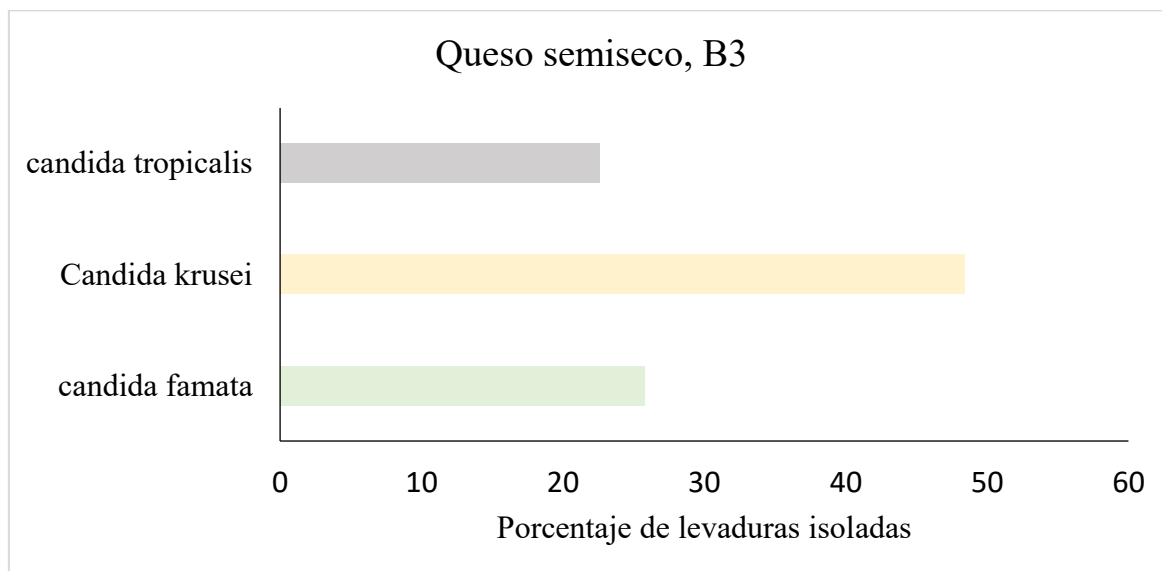


Figura 7: Distribución porcentual de las levaduras identificadas en queso semiseco artesanal elaborado en la región C2, Olancho

El queso semiseco de la región B3 mostró una microbiota simplificada respecto al queso fresco de la misma región. En este caso, *C. krusei* fue dominante (48,4 %), seguida por *C. famata* (25,8 %) y *C. tropicalis* (22,6 %). Esta distribución confirma que, a medida que disminuye la humedad del queso, tienden a prevalecer las levaduras con mayor tolerancia a condiciones más restrictivas.

Desde un enfoque positivo, la presencia de *C. famata* cobra relevancia, ya que esta levadura es clave en la maduración de quesos de superficie, debido a su capacidad de resistir altas concentraciones de NaCl y de generar compuestos aromáticos característicos. Además ciertas cepas han mostrado potencial bioprotector al competir con mohos que comprometen la calidad (Huang et al., 2021).

En comparación con estudios internacionales, este queso presentó similitud con quesos madurados y semiduros europeos, donde *D. hansenii* se mantiene como especie clave junto a levaduras oportunistas de *Candida* (Fröhlich-Wyder et al., 2019; Ermenlieva et

al., 2025). Esta combinación entre especies con valor funcional y especies con riesgo sanitario refleja una dinámica típica de fermentaciones espontáneas.

La correlación con los demás quesos indicó que la región B3 mantiene coherencia microbiológica: tanto en fresco como en semi-seco, *C. famata* conservó un papel importante. En contraste, A3 y C3 Las muestras A3 y C3 no mostraron levaduras, pues los espectros obtenidos no alcanzaron el nivel de confiabilidad requerido por el MALDI-TOF.

V. CONCLUSIONES

El estudio permitió aislar, identificar y caracterizar las levaduras presentes en quesos artesanales elaborados en diferentes regiones del departamento de Olancho, brindando una comprensión más profunda de la microbiota asociada a estos productos tradicionales. La recolección de muestras de queso fresco, semiseco, seco y quesillo en tres localidades, junto con la aplicación de técnicas microbiológicas estandarizadas y la identificación mediante MALDI-TOF MS, aseguró la obtención de aislamientos precisos y representativos de la diversidad levaduriforme presente en cada tipo de queso.

Los recuentos de levaduras revelaron cargas microbianas variables entre regiones y tipos de queso, lo que evidenció que la presencia de estos microorganismos está influenciada tanto por la calidad de la leche cruda como por las condiciones artesanales de elaboración. Aunque algunos quesos mostraron niveles compatibles con procesos fermentativos espontáneos, otros presentaron valores más altos que podrían relacionarse con riesgos de deterioro o con la reducción de la vida útil del producto, lo cual aporta información clave para mejorar las prácticas de manipulación y control higiénico.

En cuanto a la diversidad de levaduras, se identificaron especies pertenecientes a los géneros *Candida*, *Pichia*, *Saccharomyces* y *Trichosporon*, siendo *Candida famata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* las de mayor prevalencia. Asimismo, especies como *C. kefir*, *P. norvegensis* y *S. cerevisiae* aparecieron en menor proporción, aunque con un destacado potencial tecnológico. Estas variaciones reflejan la influencia de la composición de la leche, de las particularidades ambientales de cada región y del manejo artesanal característico de los productores locales.

Los resultados muestran que los quesos artesanales elaborados con leche cruda presentan una microbiota levaduriforme particular, donde coexisten especies beneficiosas y oportunistas. La alta presencia de *C. famata/Debaryomyces hansenii* en las muestras (B1,

B2, B3) indica un perfil con posible valor tecnológico, mientras que la mayor proporción de levaduras oportunistas en los productos de la región (A1, A2, A3) y C (C1, C2, C3) evidencia la necesidad de mejorar las prácticas de higiene durante el ordeño y la elaboración. En conjunto, esta caracterización ofrece una base científica para fortalecer el control microbiológico, mejorar la calidad de los quesos artesanales y avanzar en la selección de levaduras nativas con potencial funcional en Olancho.

VI. RECOMENDACIONES

A partir de los hallazgos obtenidos, Se recomienda fortalecer las buenas prácticas de ordeño y el manejo inicial de la leche, ya que muchas levaduras oportunistas están asociadas al estado sanitario de la ubre, la higiene del equipo y la calidad del agua. Además, es esencial aplicar limpieza, desinfección y almacenamiento inmediato de la leche cruda para reducir contaminaciones. Asimismo, capacitaciones comunitarias podrían mejorar la comprensión del impacto de estas levaduras sobre la inocuidad, especialmente en la región (A1, A2, A3) y en la región (C1, C2, C3), donde se observó mayor carga microbiana.

En contraste, la región (B1, B2, B3) presentó un perfil con levaduras de interés tecnológico, con potencial para desarrollar cultivos iniciadores nativos capaces de aportar identidad territorial y mejorar la calidad sensorial. Además, se recomienda evaluar su producción de compuestos aromáticos, tolerancia a sal y actividad inhibitoria frente a mohos. Asimismo, especies como *Pichia norvegensis*, *C. kefir* y *S. cerevisiae* podrían explorarse como agentes bioprotectores.

De igual forma, se sugiere establecer un sistema de monitoreo microbiológico utilizando herramientas como MALDI-TOF MS para evaluar la calidad de la leche y del queso en distintas etapas. Además, es conveniente elaborar manuales de buenas prácticas y promover el intercambio de experiencias entre productores de la región (B1, B2, B3) con el perfil más favorable y aquellos de la región (A1, A2, A3), donde se identificaron mayores desafíos higiénicos.

Con base en los resultados obtenidos, se propone que futuras investigaciones se enfoquen en aislar, purificar y caracterizar funcionalmente las levaduras beneficiosas encontradas, especialmente *D. hansenii*, *C. kefir*, *C. zeylanoides* y *Pichia norvegensis*. Estas especies podrían evaluarse como cultivos iniciadores nativos o agentes bioprotectores.

BIBLIOGRAFIA

Afzal, M; Khurshid, S; Khalid, R; Paracha, RZ; Khan, IH; Akhtar, MW. 2015. Fusion of selected regions of mycobacterial antigens for enhancing sensitivity in serodiagnosis of tuberculosis. Journal of Microbiological Methods 115:104-111. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.06.003>.

. 2015. Fusion of selected regions of mycobacterial antigens for enhancing sensitivity in serodiagnosis of tuberculosis. Journal of Microbiological Methods 115:104-111. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.06.003>.

Arrivillaga, Efraín. 2013. EL MERCADO DE LECHE Y SUS DERIVADOS EN HONDURAS. s.l., s.e.

Bintsis, T. 2021. Yeasts in different types of cheese. AIMS Microbiology 7(4):447-470. DOI: <https://doi.org/10.3934/microbiol.2021027>.

2021. Yeasts in different types of cheese. AIMS Microbiology 7(4):447-470. DOI: <https://doi.org/10.3934/microbiol.2021027>.

Câmara, AA; Margalho, LP; Lang, E; Brexó, RP; Sant'Ana, AS. 2024. Yeast diversity in Brazilian artisanal cheeses: Unveiling technologically relevant species to improve traditional cheese production. Food Research International 196:115107. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.115107>.

Chen, Y; Yin, S; Li, M; Chen, R; Wei, L; Ma, H; Deng, S; De Hoog, GS; Lai, W; Lu, C; Feng, P. 2016. A case of chromoblastomycosis by *Fonsecaea nubica* indicating a possible

insect route of transmission. *Mycoses* 59(10):662-667. DOI: <https://doi.org/10.1111/myc.12523>.

Commissioner, O of the. 2025. Evite quesos tipo fresco si está en grupos de alto riesgo (en línea). FDA . Consultado 4 may 2025. Disponible en <https://www.fda.gov/consumers/articulos-para-el-consumidor-en-espanol/evite-quesos-tipo-fresco-si-esta-en-grupos-de-alto-riesgo>.

Dolci, P; Alessandria, V; Zeppa, G; Rantsiou, K; Cocolin, L. 2008. Microbiological characterization of artisanal Raschera PDO cheese: Analysis of its indigenous lactic acid bacteria. *Food Microbiology* 25(2):392-399. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.09.006>.

Enriquez, L; Jj, D; A, P; L, M; Ga, F. 2016. Characterization of Microbiota Isolated from Traditional Honduran Cheese (en línea). *Journal of Food & Industrial Microbiology* 02(02). DOI: <https://doi.org/10.4172/2572-4134.1000117>.

Fröhlich-Wyder, M-T; Arias-Roth, E; Jakob, E. 2019. Cheese yeasts. *Yeast* 36(3):129-141. DOI: <https://doi.org/10.1002/yea.3368>.

Geronikou, A; Srimahaeak, T; Rantsiou, K; Triantafillidis, G; Larsen, N; Jespersen, L. 2020. Occurrence of Yeasts in White-Brined Cheeses: Methodologies for Identification, Spoilage Potential and Good Manufacturing Practices. *Frontiers in Microbiology* 11:582778. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.582778>.

_____. 2020. Occurrence of Yeasts in White-Brined Cheeses: Methodologies for Identification, Spoilage Potential and Good Manufacturing Practices (en línea). *Frontiers in Microbiology* 11. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.582778>.

Huerta-Jimenez, M; Herrera-Gomez, B; Dominguez-Ayala, EA; Chavez-Martinez, A; Juarez-Moya, J; Felix-Portillo, M; Alarcon-Rojo, AD; Carrillo-Lopez, LM. 2022.

Properties of Oaxaca Cheese Elaborated with Ultrasound-Treated Raw Milk: Physicochemical and Microbiological Parameters. *Foods* 11(12):1735. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods11121735>.

_____. 2022. Properties of Oaxaca Cheese Elaborated with Ultrasound-Treated Raw Milk: Physicochemical and Microbiological Parameters. *Foods* 11(12):1735. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods11121735>.

Jose, EPE. 2003. Elaboracion de normas tecnicas para cinco productos lacteos artesanales de Honduras. .

Manríquez, MJ; Orbe, JP; Parra, J; Pinchao, N. 2021. Formulación y caracterización fisicoquímica y sensorial de un queso semimaduro saborizado tipo Andino Carchense. *Alimentos Ciencia e Ingeniería* 28(1):64-80. DOI: <https://doi.org/10.31243/aci.v28i1.1038>.

Mansour, S; Beckerich, JM; Bonnarne, P. 2008. Lactate and Amino Acid Catabolism in the Cheese-Ripening Yeast *Yarrowia lipolytica*. *Applied and Environmental Microbiology* 74(21):6505-6512. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.01519-08>.

Márquez-González, M; Osorio, LF; Velásquez-Moreno, CG; García-Lira, AG. 2022. Thermal Inactivation of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in Quesillo Manufactured from Raw Milk. *International Journal of Food Science* 2022:2507867. DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/2507867>.

Pineda, B; Antonio, E. 1998. Tecnificación de los procesos de manufactura y caracterización de quesos artesanales centroamericanos para exportación. .

Prista, C; Almagro, A; Loureiro-Dias, MC; Ramos, J. 1997. Physiological basis for the high salt tolerance of *Debaryomyces hansenii*. *Applied and Environmental Microbiology* 63(10):4005-4009. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.63.10.4005-4009.1997>.

RTCA, R. 2017. PRODUCTOS LÁCTEOS. QUESOS NO MADURADOS, INCLUIDO EL QUESO FRESCO. ESPECIFICACIONES. s.l., s.e.

Sánchez Quitian, ZA; Pérez Rozo, GM; Firacative, C. 2024. Occurrence of pathogenic yeast species in artisanal cheeses from Boyacá, Colombia, including fluconazole resistant isolates. F1000Research 13:789. DOI: <https://doi.org/10.12688/f1000research.152447.3>.

Occurrence of pathogenic yeast species in artisanal cheeses from Boyacá, Colombia, including fluconazole resistant isolates. F1000Research 13:789. DOI: <https://doi.org/10.12688/f1000research.152447.3>.

Saremnezhad, S; Soltani, M; Faraji, A; Hayaloglu, AA. 2021. Chemical changes of food constituents during cold plasma processing: A review. Food Research International 147:110552. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110552>.

Tang, L; Liu, R; Xu, Y; Zhang, X; Liu, R; Chang, M; Wang, X. 2022. Synergistic and antagonistic interactions of α -tocopherol, γ -oryzanol and phytosterol in refined coconut oil. LWT 154:112789. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112789>.

Zheng, X; Shi, X; Wang, B. 2021. A Review on the General Cheese Processing Technology, Flavor Biochemical Pathways and the Influence of Yeasts in Cheese (en línea). Frontiers in Microbiology 12. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.703284>.

Arastehfar, A., Daneshnia, F., Hedayati, M. T., Najafzadeh, M. J., Hagen, F., Mahmoudi, S., et al. (2017). *First report of Cyberlindnera fabianii fungemia: Clinical and microbiological characteristics*. Annals of Laboratory Medicine, 36(4), 392–395. <https://doi.org/10.3343/alm.2016.36.4.392>

Bhaskaran, A., Studer, L., Brugger, S. D., & Mertz, K. D. (2016). *Trichosporon loubieri fungemia in a patient with hematological malignancy*. Medical Mycology Case Reports, <https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2016.04.002>

Bintsis, T. (2021). *Yeasts in different types of cheese*. AIMS Microbiology, 7(4), 447–470. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2021027>

Büchl, N. R., & Seiler, H. (2011). *Yeast and molds: Yeasts in milk and dairy products*. En Fuquay, Fox & McSweeney (Eds.), Encyclopedia of Dairy Sciences (2nd ed., pp. 744–753). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00498-2>

Du, W., Liu, J., Zhang, Y., Zeng, H., & Qiu, J. (2018). *Epidemiological investigation of non-albicans Candida species causing bovine mastitis in China*. BMC Veterinary

Research, 14, 251. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1702-0>

Fallahi, A. A., Rezaei-Matehkolaei, A., Shokohi, T., Abastabar, M., Tamura, T., & Hagen, F. (2012). *Trichosporon faecale, an emerging yeast species causing deep-seated infection*. Journal of Clinical Microbiology, 50(10), 3453–3456. <https://doi.org/10.1128/JCM.01452-12>

Gabriel, F., Noel, T., Accoceberry, I., & Fillet, A. M. (2011). *Trichosporon loubieri invasive infection: Case report and review*. Journal of Clinical Microbiology, 49(11), 4035–4037. <https://doi.org/10.1128/JCM.01273-11>

Hansen, T. K. (2001). *Use of Saccharomyces cerevisiae as a starter culture in Mycella cheese*. International Journal of Food Microbiology, 69(1–2), 101–113. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00714-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00714-5)

Henriques, M., & Silva, S. (2021). *Candida albicans virulence factors and pathogenicity*. Microorganisms, 9(4), 704. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040704>

Kourti, M., & Roilides, E. (2022). *Invasive trichosporonosis in neonates and pediatric patients with malignancies or hematologic disorders*. Pathogens, 11(2), 242. <https://doi.org/10.3390/pathogens11020242>

Németh, T., et al. (2013). *Functional characteristics of Candida parapsilosis complex species*. Frontiers in Microbiology, 4, 57. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00057>

Panelli, S., Brambati, E., Bonacina, C., Feligini, M., & Buzzini, P. (2013). *Diversity of fungal flora in raw milk from the Italian Alps*. SpringerPlus, 2, 405. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-405>

Parapouli, M., Vasileiadis, A., Afendra, A., & Hatziloukas, E. (2020). *Saccharomyces cerevisiae and its industrial applications*. AIMS Microbiology, 6(1), 1–31. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2020001>

Pérard, A., et al. (2015). *Trichosporon faecale fungemia in a patient with severe aplastic anemia*. Mycopathologia, 179, 145–150. <https://doi.org/10.1007/s11046-014-9835-y>

Sugita, T., Nishikawa, A., Ikeda, R., & Shinoda, T. (1998). *Taxonomic position of Trichosporon japonicum isolated from air*. Journal of Medical and Veterinary Mycology, 36(3), 157–160. <https://doi.org/10.1080/02681219880000241>

Zareshahrabadi, Z., et al. (2024). *Antifungal drug susceptibility profile of Candida kefyr isolated from clinical samples and dairy products*. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology, 2024, 6594366. <https://doi.org/10.1155/2024/6594366>

Breuer, U., & Harms, H. (2006). *Debaryomyces hansenii*—an extremophilic yeast with biotechnological potential. *FEMS Microbiology Reviews*, 30(3), 591–602. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2006.00027.x>

Büchl, N., & Seiler, H. (2011). Contribution of *Debaryomyces hansenii* to cheese ripening: A review. *International Dairy Journal*, 21(10), 703–710. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.05.003>

Commenges, S., Marteil, C., Cousin, F. J., Foligné, B., & Jeanson, S. (2024). Diversity and dynamics of yeast communities in raw milk and traditional cheeses. *Microorganisms*, 12(1), 55. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12010055>

Corbo, M. R., Albenzio, M., De Angelis, M., & Sevi, A. (2001). Microbiological and biochemical characteristics of traditional raw milk cheeses. *Food Microbiology*, 18(3), 251–259. <https://doi.org/10.1006/fmic.2000.0396>

de Melo Pereira, G. V., Ramos, C. L., Casarotti, S. N., & Rodrigues, A. T. (2022). Yeasts in fermented foods: Ecological aspects and biotechnological applications. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1012340. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1012340>

Delgado, M., Mayo, B., Rachid, S., & Gutiérrez, S. (2023). Bioprotective potential of *Pichia* species in dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 106(5), 2871–2884. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22651>

Dishan, A. (2025). Occurrence of *Candida* species in raw milk and dairy products: Pathogenicity and technological relevance. *LWT – Food Science and Technology*, 189, 115012. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.115012>

Du, J., Zhao, Y., Wang, H., & Li, P. (2018). *Candida* species isolated from cows with mastitis and their antifungal susceptibility. *Journal of Dairy Science*, 101(6), 5353–5362. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14184>

Ermenlieva, N., Uzunova, K., & Dimitrov, Z. (2025). Yeast diversity in brined white cheeses: Safety, quality and functional insights. *International Journal of Food Microbiology*, 411, 110323. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2024.110323>

Fadihl, N., Özmen Togay, S., & Yalçın, H. (2016). Identification and characterization of yeasts in traditional Turkish white cheeses. *Journal of Food Safety*, 36(4), 485–494. <https://doi.org/10.1111/jfs.12270>

Fröhlich-Wyder, M. T., Arias-Roth, E., & Jakob, E. (2019). Yeasts in dairy products: Significance and interactions with lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 290, 64–76. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.021>

Gelen, H. (2021). Yeast biodiversity in traditional Turkish cheeses: Technological and safety aspects. *Food Microbiology*, 94, 103657. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103657>

Goerges, S., et al. (2011). *Pichia norvegensis* as a protective culture against *Listeria monocytogenes* in Tilsit cheese. *Food Control*, 22(10), 1860–1866. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.04.003>

Huang, R., Wang, Z., & Li, X. (2021). *Debaryomyces hansenii* as a bioprotective yeast in dairy products. *Journal of Applied Microbiology*, 130(2), 467–478. <https://doi.org/10.1111/jam.14777>

Ianieva, O. D. (2013). Lactose-fermenting yeasts in dairy environments: Physiological and biotechnological potential. *Dairy Science & Technology*, 93(3), 191–203. <https://doi.org/10.1007/s13594-013-0113-2>

Özmen Togay, S., Yalçın, H., & Fadihl, N. (2020). Occurrence and technological impact of yeasts in Turkish white cheeses. *International Dairy Journal*, 109, 104727. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104727>

Panelli, S., Basso, M., Magni, S., et al. (2013). Dynamics of yeast communities in traditional raw milk cheeses. *Food Microbiology*, 35(1), 81–90. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.03.003>

Parapouli, M., Vasileiadis, A., & Afendra, A. (2020). *Saccharomyces cerevisiae* and its applications in food biotechnology. *Foods*, 9(8), 1117. <https://doi.org/10.3390/foods9081117>

Ramos-Moreno, L., Martín, A., & Córdoba, M. G. (2021). Role of *Debaryomyces hansenii* in cheese flavor development and quality. *LWT – Food Science and Technology*, 150, 112036. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112036>

ANEXOS

Anexo 1: Dichloran Rose Bengal Cloramphenicol (DRBC)

Medio utilizado para el crecimiento de levaduras

- Glicose ----- 10,0 g
- Peptona ----- 5,0 g
- Dichloran Rosa ----- 20,0 g

Yeast Extract Peptone Glucose (YEPG)

Medio utilizado para el crecimiento de levaduras

- Glicose -----20,0g
- Peptona -----20,0 g
- Extracto de Levadura -----10,0 g
- Agar -----15,0 g
- Agua Destilada -----1000 mL

Anexo 2:Etapas del análisis microbiológico.



Ilustración 1: Preparación de la dilución

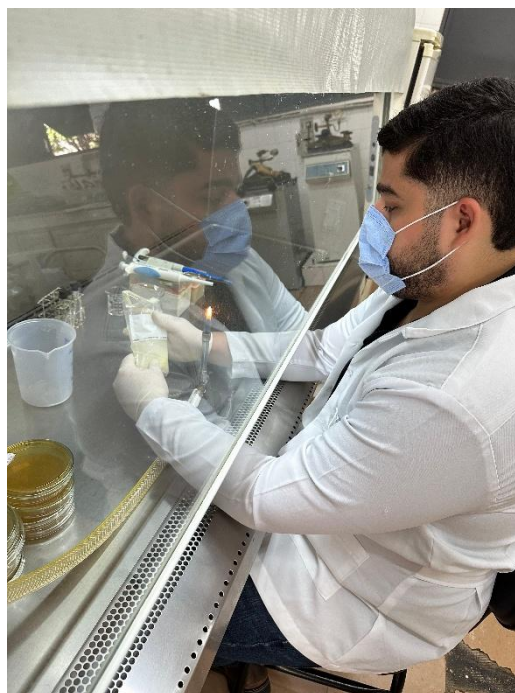


Ilustración 2: Muestra de queso diluida



Ilustración 3: Siembra por extensión en superficie

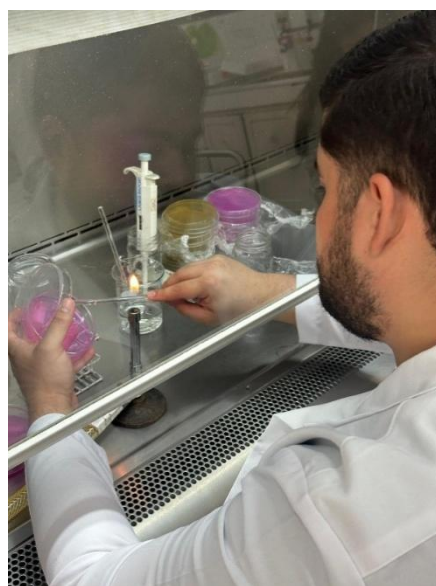


Ilustración 4: Distribución homogénea luego del vertido en placa de medio DRBC



Ilustración 5: almacenamiento de placas para incubación en BOD

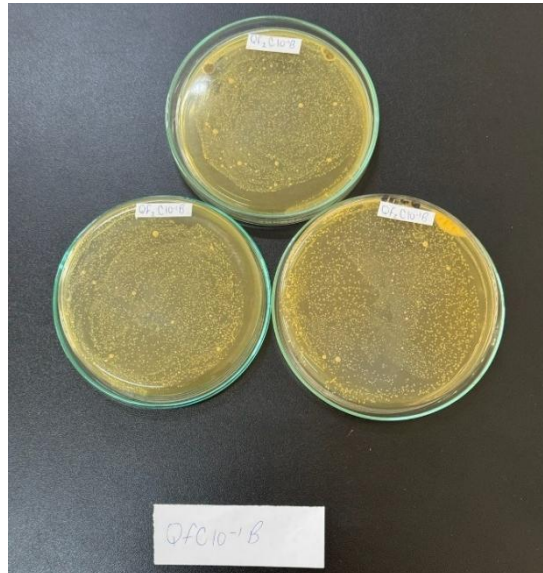


Ilustración 6: Colonias de Levaduras en medio YEPG



Ilustración 7: Preservación de aislamientos de levadura



Ilustración 8: Almacenamiento en microtubos Eppendorf

Anexo 3: Etapas del procedimiento e identificación de levaduras mediante MALDI-TOF



Ilustración 9: Resiembra de levaduras aisladas en placas



Ilustración 10: Crecimiento de levaduras luego de 18 horas a 25 grados Celsius.

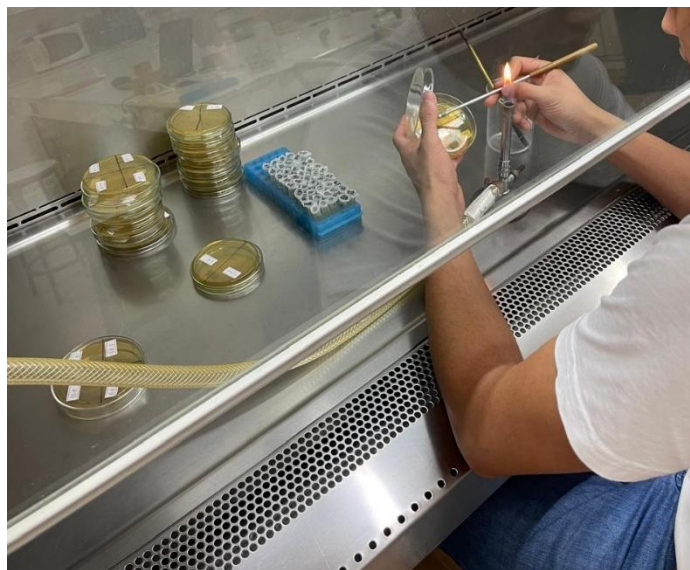


Ilustración 11: Preparación de las levaduras aisladas para el Mauditof



Ilustración 12: Preparación de microtubos Eppendorf para el análisis MALDI-TOF MS



Ilustración 13: Centrifugación de muestras



Ilustración 14: Colocación levaduras en la placa MSP para lectura en MALDI-TOF MS

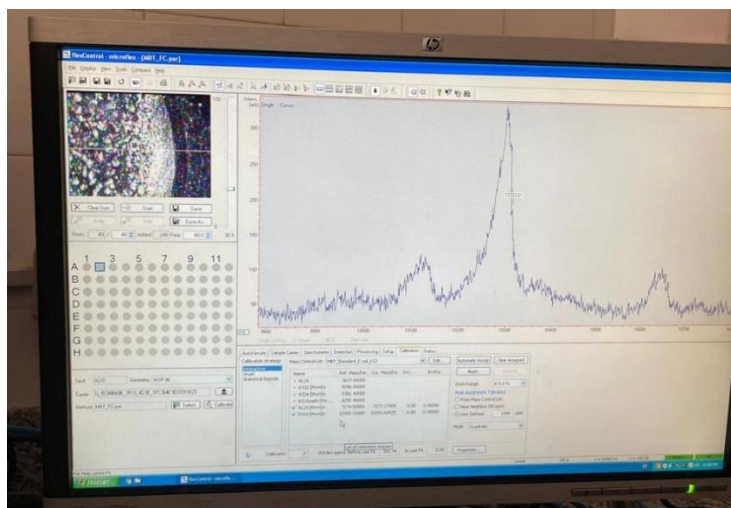


Ilustración 15: Calibración de la máquina del MALDI-TOF-MS

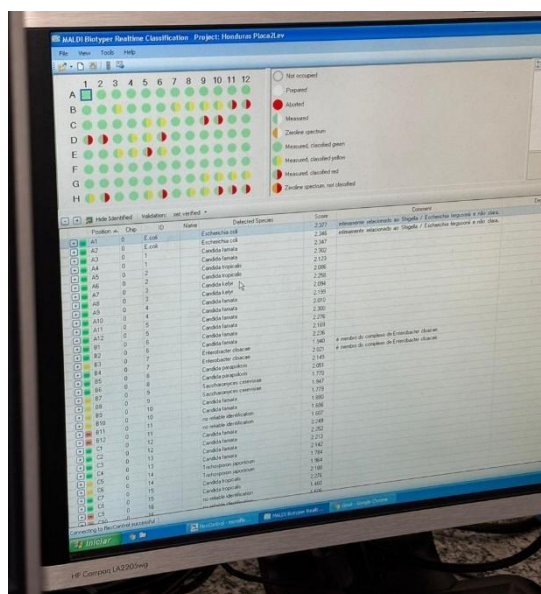


Ilustración 16: Resultados en el computador del MALDI-TOF MS

Anexo 4: Tabla de codificación para el MALDI-TOF MS

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	E. Coli	E. Coli	1	1	2	2	3	3	4	4	5	5
B	6	6	7	7	8	8	9	9	10	10	11	11
C	12	12	13	13	14	14	15	15	16	16	17	17
D	18	18	19	19	20	20	21	21	22	22	23	23
E	24	24	25	25	26	26	27	27	28	28	29	29
F	30	30	31	31	32	32	33	33	34	34	35	35
G	36	36	37	37	38	38	39	39	40	40	41	41
H	42	42	43	43	44	44	45	45	46	46	47	47

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	E. Coli	E. Coli	6.E.3	6.E.3	2.F.2	2.F.2	2.F.1	2.F.1	3.F.1	3.F.1	1.E.2	1.E.2
B	1.E.3	1.E.3	7.A	7.A	2.A	2.A	6.A	6.A	11.F.4	11.F.4	5.F	5.F
C	8.F.3	8.F.3	8.F.2	8.F.2	4.F	4.F	10.D	10.D	9.D	9.D	6.E.1	6.E.1
D	4.E	4.E	5.E	5.E	3.E.1	3.E.1	6.E.1	6.E.1	3.A.4	3.A.4	1.E.1	1.E.1
E	4.A	4.A	5.A	5.A	6.D	6.D	8.B.2	8.B.2	6.B.4	6.B.4	8.B.1	8.B.1
F	11.D.1	11.D.1	6.F.1	6.F.1	7.F	7.F	8.A	8.A	6.B.2	6.B.2	6.B.3	6.B.3
G	6.E.2	6.E.2	8.D.1	8.D.1	11.D.2	11.D.2	12.D.1	12.D.1	10.F	10.F	9.F.2	9.F.2
H	8.F.1	8.F.1	9.F.1	9.F.1	6.F.2	6.F.2	3.F.2	3.F.2	3.F.3	3.F.3	7.D	7.D

Anexo 5: Amigos y colaboradores para la realización de la Investigación.

