

1 **Aplicación de diferentes antifúngicos en la cuajada de queso fresco: monitoreo de su vida** 2 **útil**

3
4 Rodríguez-Hernández G.*^{1,3}, Araujo-Alzati A.G.¹, Franco-Robles E.^{2,3}, Ozuna-López C.^{1,3}

5
6 **1**-Departamento de Alimentos, División de ciencias de la vida, Universidad de Guanajuato Campus Irapuato–Salamanca. **2**-
7 Departamento de medicina veterinaria, División de ciencias de la vida, Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-
8 Salamanca. **3**-Posgrado de Biociencias, División de ciencias de la vida, Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-
9 Salamanca. gabriela.rodriguez@ugto.mx*

10 11 **RESUMEN:**

12 En este estudio se probó el efecto de la adición de diferentes antifúngicos (naturales y artificiales) en queso
13 fresco elaborado con y sin un cultivo iniciador mixto, con la finalidad de prolongar su vida útil hasta 28
14 días mantenido en refrigeración a 4 °C. De los tratamientos analizados, se observó que la mejor opción es
15 adicionar el conservador conserplus^R (conservador artificial), ya que fue el único de los tratamientos
16 probados que logra mantener las cuentas de mohos y levaduras por debajo de los permitido para queso
17 fresco por la NOM-121-SSA1-1994 (500 UFC/gr).

18 **Palabras clave:** orégano, tomillo, laurel, mohos y levaduras.

19 20 **ABSTRACT:**

21 In this study, the effect of the addition of different antifungals (natural and artificial) in fresh cheese made
22 with and without a mixed starter culture was tested, in order to extend its shelf life up to 28 days, kept
23 refrigerated at 4 ° C. Of the treatments analyzed, it was observed that the best option is to add the
24 conserplus^R preservative (artificial preservative), since it was the only one of the tested treatments that
25 manages to keep the amounts of molds and yeast below those allowed for cheese by the NOM-121.SSA1-
26 1994 (500 CFU/gr).

27 **Key words:** oregano, thyme, bayleaf, fresh cheese, mold and yeast

28 **Área:** Lácteos.

29 30 **INTRODUCCIÓN.**

31 La calidad microbiológica de los alimentos es fundamental porque influye en su conservación y vida en
32 anaquel y, sobre todo, porque los microorganismos presentes en ellos, pueden ser causantes de
33 enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's). Los principales microorganismos indicadores en
34 alimentos son microorganismos aerobios mesófilos, mohos y levaduras, coliformes totales y fecales
35 (Camacho *et al.*, 2009). Los mohos y las levaduras se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente,
36 por lo que son frecuentes en la microbiota habitual de muchos alimentos y se dispersan fácilmente por el
37 aire y el polvo. (Paredes, 2009). Los mohos son hongos filamentosos multicelulares cuyo crecimiento en
38 la superficie de alimentos se reconoce fácilmente por su aspecto aterciopelado o algodonoso, a veces

39 pigmentado. Se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente, además de formar parte de la
40 microbiota normal de muchos alimentos. Las levaduras por su parte son hongos no filamentosos,
41 constituidos por una sola célula cuya morfología es diversa, además de encontrarse presente de forma
42 abundante en suelos, frutas, verduras y otros alimentos. Algunos géneros de mohos y levaduras son útiles
43 en la elaboración de alimentos en tanto que otros pueden causar descomposición o producción de
44 sustancias toxinas como micotoxinas (Camacho *et al.*, 2009). Es de gran importancia cuantificar los mohos
45 y levaduras en los alimentos, ya que está permite su utilización como un indicador de prácticas sanitarias
46 inadecuadas durante la producción y el almacenamiento de los productos, así como el uso de materia prima
47 inadecuada (NOM-111-SSA1-1994).

48 El queso es un producto elaborado con la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras
49 especies animales, obtenida por la coagulación de la caseína con cuajo, cultivos lácticos o enzimáticos,
50 ácidos orgánicos comestibles. El queso fresco se caracteriza por ser producto de alto contenido de
51 humedad, sabor suave y no tener corteza, pudiendo o no adicionarle ingredientes opcionales y tener un
52 periodo de vida en anaquel corto, requiriendo condiciones de refrigeración (NOM-121-SSA1-1994).
53 El queso es un producto alimenticio con alto valor nutritivo el cual resulta un sustrato ideal para el
54 crecimiento de hongos (Camacho *et al.*, 2009). La composición nutricional de los quesos, así como las
55 condiciones de maduración y conservación, hacen que éste constituya un sustrato ideal para el crecimiento
56 de estos microorganismos (Fente-Sampayo *et al.*, 2001). El uso de antimicrobianos (conservadores) es
57 una práctica común en la industria de los alimentos, por muchos años se han utilizado antimicrobianos
58 sintetizados químicamente (que en algunos casos han causado daño en la salud de los consumidores, si se
59 utilizan a grandes dosis), provocando un rechazo por parte de los consumidores de productos procesados,
60 los cuales buscan alternativas de alimentación cada más naturales. Los antimicrobianos continúan estando
61 entre los aditivos alimentarios más importantes. Por otra parte, debido a que algunos microorganismos
62 pueden no verse inhibidos o destruidos por las dosis convencionales de antimicrobianos utilizados
63 individualmente, puede ser preferible utilizar una combinación de ellos, ampliando así el espectro de
64 cobertura en la preservación de alimentos en general (Beuchat y Golden, 1989). En la industria
65 alimentaria, se emplean una gran variedad de sustancias como antimicrobianos de las cuales los
66 mayormente empleados en los lácteos son principalmente de origen ácido, como el ácido láctico, ácido
67 acético, ácido cítrico entre otros (Villada-Moreno, 2010). Por otra parte, el conserplus^R es un conservador
68 mixto en el cual, el ingrediente activo antimicrobiano principal de éste es un inhibidor orgánico acidulado.
69 Este conservador es usado en un amplio rango de alimentos, de los cuales panes leudados, salsas, aderezos,
70 confitería, jarabes, lácteos y tortillas principalmente. En relación con todo lo anterior, el objetivo de esta
71 investigación es evaluar los efectos de la adición de diferentes antifúngicos (naturales y artificiales) en
72 queso fresco elaborado con y sin cultivo iniciador, con la finalidad de prolongar su vida útil.

73

74 **MATERIALES Y MÉTODOS.**

75

76 **Elaboración de tratamientos y análisis de materia prima.** Se realizaron cinco diferentes tratamientos
77 de queso fresco (por triplicado cada uno de ellos), elaborados con leche de vaca. Para los tratamientos se
78 probaron dos tipos de antimicrobianos, de los cuales, se usaron conserplus^R al 0.75% en base al peso de
79 queso o mezcla de tres especias al 1% en base a peso de queso, en iguales proporciones cada uno de ellos,

80 es decir 33.33% de cada una, de las cuales se usó, orégano (*Origanum vulgare*), tomillo (*Thymus vulgaris*)
81 y laurel (*Laurus nobilis*) y así también, se incluyó la adición o no de un cultivo láctico mixto (CI) en una
82 proporción de 0.5%, mismo que se compone de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*,
83 *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. Por lo anterior los tratamientos quedaron de la siguiente manera:

- 84
85 - Tratamiento 1.- Queso con CI y mezcla de especias.
86 - Tratamiento 2.- Queso con CI y conserplus^R.
87 - Tratamiento 3.- Queso sin CI y mezcla de especias.
88 - Tratamiento 4.- Queso sin CI y conserplus^R.
89 - Tratamiento 5.- Queso control sin adición de CI ni antimicrobianos.

90
91 **Evaluación de vida en anaquel.** Se llevó a cabo un monitoreo de los quesos según los tratamientos
92 contemplados y sus respectivas repeticiones a los 0, 7, 14, 21 y 28 días, mantenidos en refrigeración a 4
93 °C. Se realizó la cuantificación de mohos y levaduras, por triplicado y según la metodología descrita por
94 la NOM-111- SSA1-1994, la cual consiste en conteo en placa usando el agar PDA (Papa Dextrosa Agar)
95 e incubando las muestras a una temperatura de 25 °C y los resultados de estas cuantificaciones fueron
96 comparados con el límite máximo establecido para queso fresco en la NOM-121-SSA1-1994 (500
97 UFC/gr).

98
99
100 **Análisis estadísticos.** Los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico MINITAB versión 14.12.
101 En el cual, se usó un análisis de varianza (ANOVA), considerando un diseño en bloques (tres lotes)
102 incluidas como variables clasificatorias los tratamientos, y como variable de respuesta los conteos (UFC/g)
103 determinadas durante vida en anaquel en los quesos. Adicionalmente se usó la prueba de TUKEY, para
104 analizar las diferencias entre medias.

105

106 **RESULTADOS Y DISCUSIÓN.**

107 Con respecto a los análisis microbiológicos realizados durante la vida en anaquel en los quesos, se observó
108 que no todos los tratamientos cumplieron con el límite para quesos frescos, establecido por la NOM-121-
109 SSA1-1994 (500 UFC/gr) como se observan en el Cuadro 1. Adicionalmente, se puede decir que durante
110 la vida en anaquel de todos los quesos, se observó un incremento constante en los conteos de mohos y
111 levaduras para cada uno de ellos. De la misma manera, se puede observar que ambos tratamientos
112 adicionados con el cultivo iniciador mixto presentaron mayor conteo de mohos y levaduras durante su
113 vida en anaquel; así también, el tratamiento que mejor inhibió el crecimiento de hongos fue el que tenía
114 solo conserplus^R, por lo cual, se puede recomendar que en estudios posteriores sean los aceites esenciales
115 los que sean añadidos a la cuajada del queso para que se pueda observar una mayor inhibición de hongos
116 o bien la inhibición esperada sea propiamente mayor a la realizada por el conservador artificial. Por otra
117 parte, aunque conserplus^R es un conservador ampliamente usado en la industria alimentaria en nuestro país,
118 no existen estudios previos que lo reporte o analicen aún, aunado a esto la mayoría de los estudios
119 realizados en antimicrobianos en lácteos son con el uso de bacteriocinas como la nisina (Heredia-Castro

120 *et al.*, 2017) o con hierbas como el tomillo (Mejía-López *et al.*, 2017), donde se han reportado efectos
 121 importantes sobre la disminución de las cargas microbianas por efecto de estos antimicrobianos naturales.

122

Cuadro 1. Conteo de mohos y levaduras en diferentes tratamientos de queso fresco accionado con antifúngicos naturales y artificiales durante su vida útil.

Tratamientos	Día de monitoreo de vida útil				
	0	7 ^a	14 ^b	21 ^c	28 ^c
T1	105.4 ± 2.1 ^a	151.5 ± 7.3 ^a	609.1 ± 1.4 ^b	1695.0 ± 35.3 ^c	1995.7 ± 35.3 ^c
T2	98.5 ± 4.9 ^a	117.6 ± 8.1 ^a	537.5 ± 10.6 ^b	1373.3 ± 39.6 ^c	1639.2 ± 54.4 ^c
T3	81.4 ± 9.9 ^a	87.5 ± 0.7 ^a	110.4 ± 14.1 ^b	388.5 ± 17.7 ^c	584.5 ± 19.1 ^c
T4	37.0 ± 1.4 ^a	55.5 ± 0.9 ^a	127.5 ± 24.7 ^b	260.5 ± 13.3 ^c	444.3 ± 7.7 ^c
T5	102.5 ± 4.35 ^a	117.3 ± 11.3 ^a	165 ± 19.8 ^b	384.7 ± 19.8 ^c	909.1 ± 34.6 ^c

T1.- Queso con CI y mezcla de especias. T2.- Queso con CI y conserplus^R. T3.- Queso sin CI y mezcla de especias. T4.- Queso sin CI y conserplus^R. T5.- Queso control sin adición de CI ni antimicrobianos. Literales distintas indican diferencia significativa por efecto de día de monitoreo (p <0.01).

123

124 CONCLUSIÓN.

125 Se puede concluir que para los análisis microbiológicos realizados durante la vida en anaquel en los quesos
 126 frescos adicionados con diferentes antifúngicos naturales o artificiales, se observó que no todos los
 127 tratamientos cumplieron con el límite para quesos frescos y que el mejor tratamiento de todos los
 128 analizados fue en el cual se añadió conserplus (antifúngico artificial) a los quesos, manteniendo las cuentas
 129 más bajas para mohos y levaduras durante su vida en anaquel con respecto a los otros tratamientos.

130

131 BIBLIOGRAFÍA.

132

- 133 - Beuchat, L.R. Y Golden, D.A. (1989). Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food*
 134 *Technology*. 43(1): 134-142.
- 135 - Camacho A., Giles M., Ortegón A., Palao M., Serrano B. y Velázquez O. (2009). *Manual de*
 136 *Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos*. Facultad de químicas UNAM. México.
- 137 - Fente-Sampayo C.A., Vázquez-Belda B., Franco-Abuin C., Quinto-Fernández E., y Cepeda-Sáez
 138 A. (2001) Influencia de las buenas prácticas de fabricación en la contaminación fúngica del queso
 139 de Arzúa. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 3(3): 169-172.
- 140 - Heredia-Castro P.Y, Hernández-Mendoza A, González-Córdova A.A. y Vallejo-Córdova B.
 141 (2017). Bacteriocinas de bacterias ácido lácticas: mecanismos de acción y actividad antimicrobiana
 142 contra patógenos en quesos. *Interciencia*. 42(6): 340-346.

- 143 - Mejía- López A., Herrera B., Salazar M., Rojas F., Gavín V. y Escobar J.A. (2017). Tomillo
144 (*Thymus vulgaris*) como agente antimicrobiano en la producción de queso fresco. Revista
145 Amazónica Ciencia y Tecnología. 6(1): 45-54.
- 146 - Norma Oficial Mexicana. NOM-111-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de
147 mohos y levaduras en alimentos. Mexico, D.F., 10 de mayo de 1995.
- 148 - Norma Oficial Mexicana NOM-121-SSA1-1994, Bienes y servicios. Quesos: frescos, madurados
149 y procesados. Especificaciones sanitarias.
- 150 - Paredes V. (2009). Inocuidad de los alimentos. Facultad de Ciencia Animal. Universidad Nacional
151 Agraria. Managua (Nicaragua). Tesis para obtención del grado de Maestría.
- 152 - Villada-Moreno J.J. (2010). Conservadores químicos usados en la industria alimentaria. División
153 de Ciencia Animal. Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma
154 Agraria Antonio Narro. Tesis para obtención del grado de Licenciatura.

155

156