



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Efecto bacteriostático de extracto de cítricos en calostro bovino

POR

MANUEL ALEJANDRO RODRIGUEZ CASTILLO

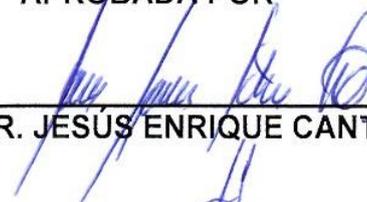
TESIS

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO  
EXAMINADOR COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL  
TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

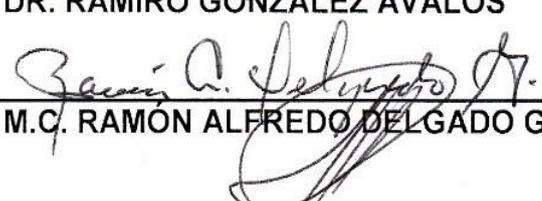
PRESIDENTE:

  
DR. JESÚS ENRIQUE CANTÚ BRITO

VOCAL:

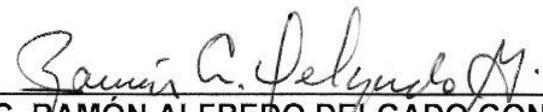
DR. RAMIRO GONZÁLEZ AVALOS

VOCAL:

  
M.C. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

VOCAL SUPLENTE:

DR. JUAN LEONARDO ROCHA VALDEZ

  
MC. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ  
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



TORREÓN, COAHUILA

OCTUBRE DE 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Efecto bacteriostático de extracto de cítricos en calostro bovino

POR

MANUEL ALEJANDRO RODRIGUEZ CASTILLO

TESIS

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ DE ASESORÍA  
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

ASESOR PRINCIPAL: \_\_\_\_\_

DR. RAMIRO GONZÁLEZ AVALOS

ASESOR: \_\_\_\_\_

DR. JESÚS ENRIQUE CANTÚ BRITO

ASESOR: \_\_\_\_\_

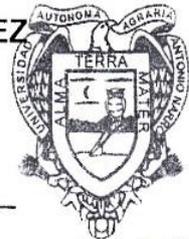
MC. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

ASESOR: \_\_\_\_\_

DR. JUAN LEONARDO ROCHA VALDEZ

  
\_\_\_\_\_  
MC. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Coordinador de la División  
Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA

OCTUBRE DE 2016

## **AGRADECIMIENTOS**

**A mi asesor**, Dr. Ramiro González Avalos, por su apoyo, guía y ayuda que siempre me brindó durante la realización de este trabajo y compartirme parte de su saber.

**Al Jefe del Departamento de Salubridad e Higiene**, M.C. José Luis Corona Medina, por permitirme realizar el presente trabajo, en el Laboratorio de Microbiología, y otorgarme el material necesario para llevarlo a cabo.

**A la M.C. Olivia García Morales**, por su apoyo teórico-práctico en la realización del estudio.

**UAAAN UL**, por darme las herramientas necesarias para la realización de este trabajo, así como las bases del conocimiento para mi formación profesional

## DEDICATORIAS

**A mis padres,** por el amor, la comprensión, y todo ese apoyo incondicional que siempre me brindaron para que yo realizara este logro tan importante y por sus consejos que siempre me ayudaron para seguir adelante.

**A mi hermana,** Clara Azucena Rodríguez castillo, que siempre me apoyo de principio a fin, que gracias a ella ha sido posible realizar cumplir esta meta.

**A mi familia,** que gracias a todos ellos que fueron parte fundamental durante todo el proceso que lleve a cabo este logro.

## RESUMEN

Diversos patógenos pueden ser transmitidos en el calostro, ya sea por descamación directa de la glándula mamaria, contaminación pos-ordeño, o proliferación bacteriana en calostro almacenado inapropiadamente. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del ácido cítrico como bacteriostático en calostro bovino. Se utilizó el calostro de primer ordeño de vacas primíparas y múltiparas de la raza Holstein Friesian dentro de las primeras 24 h después del parto. Inmediatamente después de la colecta de calostro se determinó la densidad utilizando un calostrómetro, a una temperatura de 22 °C al momento de la medición. El calostro con densidad  $\geq 50 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  de Ig se combinó hasta acumular la cantidad de 10 L (un lote). Para observar el efecto del extracto de cítricos sobre el crecimiento de bacterias en el calostro se utilizó cuatro tratamientos: T1= testigo, T2= 1 mL, T3= 2 mL, T4=3 mL de extracto de cítricos por L de calostro respectivamente. El análisis microbiológico de las muestras consistió en el recuento de CT y CF de acuerdo a la NOM-113-SSA1-1994. El análisis estadístico para los coliformes se realizó mediante una prueba de rango de Wilcoxon, ambos análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico de Olivares-Sáenz (2012). Se utilizó el valor de  $P < 0.05$  para considerar diferencia estadística. Los resultados del estudio encontraron una carga bacteriana en las muestras de calostro de 2460 hasta 18225 UFC en calostro con o sin extracto de cítricos. No existió diferencia estadística  $P < 0.05$ . El extracto de cítricos no mostró un efecto bacteriostático en calostro bovino.

**Palabras clave:** Bacterias, bacteriostático, calostro, extracto de cítricos.

## Índice General

AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIAS.....	ii
RESUMEN.....	iii
Índice General.....	iv
Índice de Cuadros.....	v
1. INTRODUCCION.....	1
1.1. Objetivo.....	2
1.2. Hipótesis.....	2
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Composición del calostro.....	3
2.2. Diversos factores que intervienen en la transferencia de inmunidad.....	4
2.3. Falla en la transferencia de inmunidad.....	6
2.4. Enfermedades transmitidas por el calostro bovino.....	7
2.5. Estrategias de conservación del calostro.....	7
2.5.1. Congelado.....	8
2.5.2. Liofilizado.....	9
2.6. Tratamientos del calostro contra agentes infecciosos.....	9
2.6.1. Acido cítrico.....	10
2.6.2. Los Ácidos Orgánicos en la Industria de Alimentos.....	11
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	14
5. CONCLUSIONES.....	16
6. LITERATURA CITADA.....	17

## Índice de Cuadros

<b>Cuadro 1</b>	Característica y composición del calostro y leche del ganado Holstein	<b>8</b>
<b>Cuadro 2</b>	Cuenta de placa estándar en muestras de calostro con o sin extracto de cítricos.	<b>27</b>

## 1. INTRODUCCION

La administración del calostro continúa siendo un área de preocupación significativa en muchos establos modernos. Varios patógenos pueden ser transferidos en el calostro, ya sea por descamación directa de la glándula mamaria, contaminación pos-ordeño, o reproducción bacteriana en calostro almacenado inapropiadamente. La contaminación bacteriana del calostro es una preocupación porque las bacterias patógenas pueden actuar directamente y causar enfermedades como las diarreas o septicemias (Godden, 2011).

Los especialistas encomiendan para la alimentación de las becerras con calostro fresco que éste contenga menos de 100,000 UFC/ml de cuenta de bacterias totales y menos de 10,000 UFC/ml como cuenta de coliformes totales (McGuirk y Collins, 2004). Los patógenos que se pueden encontrar en calostro son: *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*, *Escherichia coli*, *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Mycoplasma* spp. Y *Salmonella* spp. (Godden *et al.*, 2006).

El primer punto de inspección para alimentar un calostro con una baja carga de bacterias es prevenir la contaminación durante el ordeño, almacenamiento y proceso de alimentación; además, existe una serie de estrategias para prevenir la proliferación de bacterias en el calostro almacenado como la refrigeración, el congelamiento y el uso de agentes conservadores como el sorbato de potasio en calostro fresco (Stewart *et al.*, 2005).

El uso de conservadores es una práctica común en la industria de los alimentos, por muchos años se han utilizado antimicrobianos sintetizados químicamente, redundando en un rechazo por parte de los consumidores de productos procesados, por lo cual ha surgido la necesidad de buscar otras opciones. En

esta búsqueda se han encontrado nuevos agentes antimicrobianos de origen natural, como sustitutos de los tradicionalmente utilizados (Nychas, 1995).

Algunos antimicrobianos naturales se obtienen principalmente de hierbas, plantas, y especias. Lo más difícil es extraer, purificar, estabilizar e incorporar dicho antimicrobiano al alimento sin afectar su calidad sensorial y seguridad (Beuchat y Golden, 1989). La actividad antimicrobiana de hierbas y plantas es generalmente atribuida a los compuestos fenólicos presentes en sus extractos o aceites esenciales, y se ha observado que la grasa, proteína, concentración de sal, pH y temperatura afectan la actividad antimicrobiana de estos compuestos (Nychas, 1995).

La mayor parte de los antimicrobianos alimentarios solamente son bacteriostáticos o fungistáticos, en lugar de bactericidas o fungicidas, por lo que su efectividad sobre los alimentos es limitada. Por otra parte, debido a que algunos microorganismos pueden no verse inhibidos o destruidos por las dosis convencionales de antimicrobianos utilizados individualmente, puede ser preferible utilizar una combinación de ellos, ampliando así el espectro de cobertura en la preservación de alimentos en general (Blanchard, 2000).

### **1.1. Objetivo**

Evaluar el efecto del ácido cítrico como bacteriostático en calostro bovino.

### **1.2. Hipótesis**

La adición de ácido cítrico al calostro bovino evita la reproducción de bacterias.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Composición del calostro

El calostro, la primera secreción producida por la glándula mamaria después del parto, es especialmente rico en inmunoglobulinas (Ig) o anticuerpos, los cuáles proveen a la ternera su protección inmunológica durante las primeras semanas de vida. El calostro contiene más de  $10^6$  inmunocélulas maternas viables por mililitro, incluyendo linfocitos T y B, neutrófilos, macrófagos, factores de crecimiento y hormonas como la insulina y el cortisol. El papel de estos factores de crecimiento y hormonas juegan un papel importante en la estimulación del desarrollo del tracto gastrointestinal y otros sistemas en la ternera recién nacida (Elizondo-Salazar, 2007).

El calostro es la primera fuente de nutrientes para la ternera después del nacimiento y es además una fuente importante de Ig o anticuerpos, cuya absorción es esencial para proteger a las terneras contra infecciones entéricas, las cuáles son la razón principal de mortalidad durante las primeras semanas de vida (Elizondo-salazaret al., 2008).

El calostro bovino contiene inmunoglobulinas G (IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>); que participan en la opsonización celular y en la citólisis de las bacterias; inmunoglobulina M (IgM) que neutraliza los virus y evita su anexión a las mucosas corporales e inmunoglobulina A (IgA) que neutraliza las toxinas de origen bacteriano (Arauz et al., 2011).

La composición del calostro cambia drásticamente a medida que transcurre el tiempo postparto y con ello se altera el patrón galacto-poiético en el ganado bovino (Cuadro 1).

Cuadro 1. Característica y composición del calostro y leche del ganado Holstein (Elizondo *et al.*, 2007).

Variable	No de ordeño			Leche
	1	2	3	
Gravedad específica	1.056	1.045	1.035	1.032
Sólidos totales %	23.9	17.9	14.1	12.5
Grasas %	6.7	5.4	3.9	3.6
Sólidos no grasos %	16.7	12.2	9.8	8.6
Proteína total %	14.0	8.4	5.1	3.2
Inmunoglobulinas	6.0	4.2	2.4	0.09
Lactosa %	2.7	3.9	4.4	4.9
Calcio %	0.26	0.15	0.15	0.13
Potasio %	0.14	0.13	0.14	0.15
Sodio %	0.14	0.13	0.14	0.15
Vitamina A µg/dl	295	190	113	34

## 2.2. Diversos factores que intervienen en la transferencia de inmunidad

En todo sistema productivo el consumo de calostro permite disminuir las pérdidas económicas por una mejor resistencia a enfermedades y en consecuencia mejor viabilidad de terneros (Chahin, 2014).

Se ha señalado que lo más relevante del calostro es el recubrimiento con lactoferrina en la pared interna del intestino. Es importante también el nivel de Ig que provee. Si es bajo, la supervivencia no sobrepasa 29 %, pero si es alto puede alcanzar hasta 94 % más de viabilidad (Plaza *et al.*, 2009).

La mayor línea de defensa en contra de los patógenos en las becerras recién nacidas son las Ig derivadas del calostro. Las becerras que reciben cantidades

inadecuadas de calostro o que no absorben las Ig disponibles sufren de una alta tasa de morbilidad y mortalidad (Rodríguez *et al.*, 2013).

Aunque se administre calostro de buena calidad la demora en la alimentación con calostro puede resultar en enfermedad y muerte. Los becerros necesitan ser alimentados con calostro tan rápido como se pueda. Para obtener una buena protección inmune los terneros recién nacidos deben absorber las Ig del calostro, en las primeras 24 horas de vida. Por tanto el tiempo después del nacimiento en que se consume el calostro es crítico para adquirir una buena inmunidad (Cedeño *et al.*, 2015).

La concentración de Ig en el calostro desciende abruptamente luego del nacimiento, llegando al 50% entre las 9-12 h y al 85% a las 48 h siguientes. Descenso ligado a la importancia de la absorción de las Ig por parte del neonato y al aumento de la actividad funcional de la glándula mamaria, que al elevar su nivel de secreción, produce una dilución de las mismas (Fernández *et al.*, 1994). Una variedad de factores afectan la transferencia de inmunidad pasiva, entre los más importantes se encuentran el tiempo que transcurre desde que la ternera nace hasta que consume el calostro y la masa de Ig consumida, que a su vez se ve afectada por el volumen consumido y la concentración de Ig presentes en el mismo (Elizondo-Salazar, 2015).

El primer punto de control para alimentar un calostro con una baja carga bacteriana es prevenir la contaminación durante el ordeño, almacenamiento y proceso de alimentación (Elizondo-Salazar *et al.*, 2008). Además de las Ig que son muy importantes, existen otros factores inmunes en calostro que tienen un papel importante en la protección y defensa contra organismos patógenos, tales como factores de crecimiento, bactericidas y citocinas (Sánchez, 2015).

Las terneras son capaces de absorber Ig del calostro por un periodo limitado después del nacimiento y poca absorción es posible después de 24 h de vida. Si se presenta algún problema en la absorción de Ig, particularmente IgG<sub>1</sub>, se observará como resultado una baja concentración de Ig en el suero sanguíneo y un aumento en la incidencia de enfermedades y muerte (Elizondo, 2007).

Basado en diversas investigaciones, existen cuatro factores que contribuyen a una exitosa transferencia de inmunidad pasiva: alimentar con calostro de una alta concentración de Ig (>50 g/L), suministrar un adecuado volumen de calostro, ofrecer este en las primeras dos horas después del nacimiento, y minimizar la contaminación de bacterias del mismo (Arroyo *et al.*, 2014).

### **2.3. Falla en la transferencia de inmunidad**

Las beceras nacen prácticamente sin anticuerpos o Ig y dependen de la ingesta de calostro para obtener Ig que las ayuden a protegerse contra enfermedades infecciosas. El tracto gastrointestinal de la ternera, está diseñado para permitir, durante las primeras 24 h de vida, la absorción de moléculas grandes, incluyendo las Ig. Esto se conoce como transferencia de inmunidad pasiva. Una falla en la transferencia de inmunidad pasiva (FTP) ocurre cuando una ternera no absorbe una cantidad suficiente de Ig (Arroyo *et al.*, 2014)

El estatus inmunológico de los terneros, expresado como niveles de IgG a las 24 horas de vida, se utiliza como parámetro para estimar la inmunidad pasiva que este ha adquirido por el consumo de calostro materno. Consumos inferiores a 100 mg/L de IgG en el calostro implican niveles séricos inferiores a 10mg/mL y por tanto falla en la inmunidad pasiva del ternero FTP (Valderrama *et al.*, 2004). De acuerdo con Stott *et al.* (1979), los factores que afectan el éxito o el fracaso de la FTP son básicamente el periodo de tiempo que transcurre entre el

nacimiento y el suministro de calostro, así como la concentración de Ig y la cantidad consumida. No obstante, otros factores como la edad de la madre, la raza y el método de alimentación del calostro también pueden afectar el estado inmunológico de los terneros (Sanchez *et al.*, 2012).

#### **2.4. Enfermedades transmitidas por el calostro bovino**

La contaminación con bacterias del calostro es una preocupación porque las bacterias patógenas pueden actuar directamente y causar enfermedades como la diarrea o septicemia. Además, se cree que las bacterias en el calostro pueden interferir con la absorción pasiva de anticuerpos del calostro en la circulación y provocar una reducción de la transferencia pasiva de inmunidad en los terneros (Lozic, 2013). Diversos patógenos pueden ser transmitidos en el calostro, ya sea por descamación directa de la glándula mamaria, contaminación post-ordeño, o proliferación de bacterias en calostro almacenado inapropiadamente. Algunos de los patógenos que se pueden encontrar en calostro son: *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*, *Escherichia coli*, *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Mycoplasma* spp. y *Salmonella* spp. Estos agentes infecciosos pueden ocasionar enfermedades como la enteritis y septicemia. También se ha sugerido que la presencia de bacterias en el intestino delgado podría interferir con la absorción de Ig provenientes del calostro (Elizondo-Salazar, 2007).

#### **2.5. Estrategias de conservación del calostro**

El primer punto de control para alimentar un calostro con una baja carga bacteriana es prevenir la contaminación durante el ordeño, almacenamiento y proceso de alimentación (Elizondo, *et al.*, 2008).

Además, existe una serie de estrategias para prevenir la proliferación de bacterias en el calostro almacenado como la refrigeración, el congelamiento y el uso de agentes conservadores como el sorbato de potasio en calostro fresco. Un método adicional para reducir o eliminar los patógenos bacterianos y cuyo uso se está incrementando es la pasteurización de calostro fresco (González *et al.*, 2015).

### **2.5.1. Congelado**

Existe la posibilidad de conservar calostro de mejor calidad para suministrarlo a los terneros recién nacidos. El calostro puede ser refrigerado a 1–2°C por una semana, sin que la concentración de Ig disminuya. Otra opción es congelar hasta por un año, sin provocar una disminución significativa de las Ig. El congelador debe estar a una temperatura constante de -20°C, asegurándose que no existan periodos de descongelamiento. La forma óptima para descongelarlo es mediante la inmersión en agua tibia cuya temperatura no debe superar los 50°C, lo que permitirá una descongelación lenta, por medio de este método se puede conservar el calostro por un tiempo prolongado sin modificar la composición nutricional y de inmunoglobulinas. Se debe envasar el calostro en bolsas con una capacidad máxima de 2 litros, las cuales deben ir correctamente marcadas con la información de la vaca, número de parto, calidad del calostro y fecha de recolección. No es recomendable utilizar congeladores que formen hielo, ya que estos tienen ciclos en los cuales la temperatura fluctúa y el calostro puede descongelarse parcialmente, esto acortará la vida útil de almacenamiento del calostro o puede incluso comprometer la calidad final de éste (Fortín *et al.*, 2009).

### **2.5.2. Liofilizado**

Por medio de este proceso el calostro es sometido a deshidratación a altas temperaturas en sistemas al vacío donde se adquiere una textura fina del producto en la cual no se altera la composición natural del calostro. Este sistema de almacenamiento es costoso y está fuera del alcance de productor corriente, normalmente se emplea para la producción industrial de calostro. La congelación, el almacenamiento excesivamente prolongado y la descongelación del calostro pueden tener efectos negativos en la viabilidad de algunas células de defensa (leucocitos) del calostro (Campos *et al.*, 2007).

### **2.6. Tratamientos del calostro contra agentes infecciosos**

En la actualidad el interés por la alimentación con calostro pasteurizado para reducir la transmisión de agentes patógenos infecciosos a los terneros se ha incrementado. Sin embargo las primeras investigaciones para pasteurizar el calostro utilizando los métodos convencionales y las temperaturas que normalmente se utilizan para pasteurizar la leche, ha dado resultados menos que aceptables, ya que resulta en una reducción de hasta el 32% de concentración de IgG y reduce las concentraciones séricas de IgG en becerros que fueron alimentados con calostro pasteurizado. Sin embargo, este problema puede ser resuelto mediante el uso de una baja temperatura, ha mayor tiempo. En la mayoría de las situaciones, el tratamiento térmico de calostro a 140° F (60° C) durante 60 minutos debería ser suficiente para mantener las concentraciones de IgG, mientras que la eliminación de patógenos importantes, como la *Listeria monocytogenes*, *E. coli*, *Salmonella enteritidis*. Una prueba de campo puso de manifiesto que cuando el calostro es sometido a un tratamiento térmico a 140° F durante 60 minutos, y se alimenta a los terneros, estos experimentan mejoras

significativas en la eficiencia de absorción de los anticuerpos del calostro y tenían concentraciones de IgG en suero significativamente mayor a las 24 horas después de su nacimiento, comparados con los terneros alimentados con calostro crudo. Este beneficio se piensa que es debido al hecho de que hay un número significativamente menor de bacterias presentes en el calostro tratado térmicamente (Lozic, 2013).

Existen básicamente dos tipos de pasteurización: 1) Baja temperatura-tiempo largo (pasteurización en bache) y 2) Alta temperatura-tiempo corto. En el primer tipo, un volumen dado de calostro se calienta en un recipiente donde se agita a una temperatura de 63°C durante un lapso de 30 minutos. El segundo tipo de pasteurización, es un sistema de flujo continuo, en el cual la leche fluye dentro de un tubo en forma de espiral y es calentada a 72°C durante un lapso de 15 segundos (Elizondo, 2007).

### **2.6.1. Ácido cítrico**

Los ácidos carboxílicos son los ácidos orgánicos, se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, ya sea en su forma original o en la de alguno de sus derivados (ésteres, amidas y anhídridos). El ácido cítrico (ácido 2-hidroxi-1, 2, 3- propanotricarboxílico), es un ácido orgánico que puede ser considerado natural, sin embargo también puede ser sintetizado vía laboratorio, es un ácido orgánico que se encuentra en casi todos los tejidos animales y vegetales, se presenta en forma de ácido de frutas en el limón, mandarina, lima, toronja, naranja, piña, ciruela, guisantes, melocotón, así como en los huesos, músculos y sangre de animales. Es considerado un ácido carboxílico versátil y ampliamente utilizado en el campo de la alimentación, de los productos farmacéuticos y cosméticos, entre otros (Muños *et al.*, 2014).

En otras industrias del sector alimenticio se usa, tanto el ácido cítrico como sus sales, como saborizante y conservante. En el sector farmacéutico el ácido cítrico y sus sales se usan para la fabricación de pastillas o polvos efervescentes, también se aprovecha su efecto antioxidante, antimicrobiano y anticoagulante. Otros sectores que usan ácido cítrico son: industria cosmética, industria textil, industria agrícola e industria de detergentes; principalmente para la elaboración de detergentes biodegradables (Rivada, 2008).

### **2.6.2. Los Ácidos Orgánicos en la Industria de Alimentos**

La incorporación de ácidos en alimentos cumple diversas funciones dependiendo de la aplicación particular. Tales aplicaciones se inscriben en la explotación de una o varias de las siguientes propiedades de los ácidos orgánicos, o sus sales:

- Poder acidulante
- Capacidad amortiguadora o reguladora del pH
- Agente quelante de iones metálicos
- Emulsificante
- Efectos organolépticos.
- Entre otras

El principal uso es la acidificación y control del pH en el producto final. Un pH bajo, retarda el crecimiento de microorganismos indeseables (principalmente bacterias) y aumenta la efectividad de conservadores como benzoatos y sorbatos. Asimismo, reduce la necesidad de tratamientos térmicos drásticos durante la esterilización de frutas y verduras enlatadas, o promueve la inactivación de enzimas indeseables como polifenoloxidasas.

Los ácidos tienen propiedades quelantes de iones metálicos. Estos iones son catalizadores de reacciones indeseables en alimentos como decoloración,

rancidez, pérdida de nutrientes. Consecuentemente los ácidos orgánicos mejoran la protección producida por antioxidantes comunes como BHT (Butilhidroxitolueno), ascorbatos; ejemplo, mezclas de ácido cítrico con antioxidantes son agregadas comercialmente a aceites, salchichas y carnes secas para prevenir rancidez. La selección de un ácido en una aplicación particular depende en gran medida de su solubilidad en agua. El ácido cítrico es, por excelencia, el de mayor uso en alimentos (Muños *et al.*, 2014).

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

El estudio se desarrolló del 20 de febrero al 30 de marzo del 2016, en un establo comercial del municipio de Francisco I. Madero en el Estado de Coahuila; éste se localiza a una altura de 1100 msnm. Entre los paralelos 26° 17' y 26° 38' de latitud norte y los meridianos 103° 18' 103° 10' de longitud oeste (INEGI, 2009).

Se utilizó el calostro de primer ordeño de vacas primíparas y multíparas de la raza Holstein Friesian dentro de las primeras 24 h después del parto. Inmediatamente después de la colecta, se determinó la densidad de este producto, utilizando un calostrómetro (Biogenics Inc., Mapleton, Or., USA ®), a una temperatura de 22 °C al momento de la medición. El calostro con densidad  $\geq 50 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  de Ig se combinó hasta acumular la cantidad de 10 L (un lote).

Para observar el efecto del extracto de cítricos sobre el crecimiento de bacterias en el calostro se utilizó cuatro tratamientos: T1= testigo, T2= 1 mL, T3= 2 mL, T4=3 mL de extracto de cítricos por L de calostro respectivamente.

El análisis microbiológico de las muestras consistió en el recuento de coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF) de acuerdo a la NOM-113-SSA1-1994 (Secretaría de Salud, 1994), analizadas por duplicado, que se llevó a cabo en el laboratorio de microbiología del departamento de salubridad e higiene de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro unidad laguna. La búsqueda y aislamiento de los microorganismos patógenos de interés sanitario se llevó a cabo de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-184-SSA1-2002 (Secretaría de Salud, 2002) que considera Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado.

El análisis estadístico para los coliformes se realizará mediante una prueba de rango de Wilcoxon, ambos análisis se realizarán utilizando el paquete estadístico de Olivares-Sáenz (2012). Se utilizará el valor de  $P < 0.05$  para considerar diferencia estadística.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los resultados del presente estudio (Cuadro 1) se observa desarrollo de bacterias en las muestras de calostro.

Cuadro 1. Cuenta de placa estándar en muestras de calostro con o sin extracto de cítricos.

---

Tratamiento	Hora de la toma de muestra después del ordeño						
	0	1/2	1	2	3	4	5

---

T1	2460	3623	3513	18225	Inc	Inc	Inc
T2	5740	8593	4346	11740	Inc	Inc	Inc
T3	3940	4040	5983	4800	Inc	Inc	Inc
T4	3070	4680	6100	6309	Inc	Inc	Inc

Inc = conteo de bacterias superior a 250000-300000 colonias por placa (NOM-092-SSA1-1994).

El calostro es un producto biológico rico en carbohidratos, grasas, proteínas, minerales, vitaminas y otros elementos, y posee un pH cercano a la neutralidad. En consecuencia, constituye un medio adecuado de cultivo para bacterias. Cuenta de placa estándar estima el número total de bacterias aerobias; es un estándar aceptado para estimar la calidad de los productos alimenticios como leche y productos lácteos y es un buen indicador de las prácticas de producción higiénica de la leche. En el calostro, la cuenta estándar de placa proporciona una estimación útil de la carga bacteriana total.

Por otra parte es importante recordar que las bacterias pueden adherirse a los receptores no específicos en los enterocitos de becerras, y por consecuencia reducir el número de receptores disponibles para la filtración de Ig (Staley y Bush, 1985). Las bacterias en el calostro se pueden adherir a las Ig libres en el lumen intestinal o impedir directamente la entrada y el transporte de las moléculas de Ig a través de las células epiteliales intestinales, interfiriendo por tanto en la absorción pasiva de Ig del calostro (James *et al.*, 1981).

Elizondo-Salazar *et al.*, 2010. Realizaron un tratamiento térmico en calostro, a temperaturas de 57, 60 y 63°C con tiempos de 0, 30, 60 y 90 minutos con cada una de las temperaturas, en el cual se realizó un conteo bacteriano. En el cual

en el conteo de placa estándar encontró Una disminución ( $P < 0.05$ ) en SPC fue observada en la combinación de tiempo y la temperatura más baja ( $57^{\circ}\text{C}$  para 30 min). Tratamiento a  $57^{\circ}\text{C}$  durante 90 minutos o  $60^{\circ}\text{C}$  durante 30 o 60 min. dió lugar a casi 1  $\log^{10}$  reducción en SPC, y tratamiento a  $60^{\circ}\text{C}$  durante 90 minutos o a  $63^{\circ}\text{C}$  durante 60 minutos resultó en aproximadamente 2 reducciones de  $\log^{10}$  en SPC.

Elizondo-Salazar (2007) mediante un estudio de pasteurización realizó un análisis de bacterias en muestras de calostro no pasteurizado y otras con calostro pasteurizado. En el cual los resultados del trabajo con el tratamiento térmico de calostro a  $62^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos se observó una reducción significativa de la carga bacteriana.

## 5. CONCLUSIONES

En relación a los resultados obtenidos en este trabajo se observó que la aplicación de extracto de cítricos al calostro no redujo la carga bacteriana. Sin embargo, se recomienda seguir con investigaciones sobre el tema, utilizando diferentes dosis y en combinación con la refrigeración, congelación o pasteurización del calostro.

## 6. LITERATURA CITADA

Araúz, E. E., Fuentes, A., Batista, J. R. Ramón, V. y Caballero, S. 2011. Potencial calostropoietico en vacas multíparas 3/4 pardo suizo x 1/4 cebú y perfil químico, inmunológico y energético del calostro secretado en las primeras seis horas después del parto. REDVET. 12(9):1-28.

Arroyo-Arroyo J. J., y Elizondo-Salazar, J. A. 2014. Prevalencia de falla en la transferencia de inmunidad pasiva en terneras de lechería. Agronomía Mesoamericana. 25(2): 279-285.

Beuchat, L.R. y Golden, D.A. 1989. Antimicrobials occurring naturally in foods. Food Technol. 43(1):134-142.

- Blanchard, J. 2000. Los antimicrobianos naturales refuerzan la seguridad en los alimentos. [en línea] <http://www.directoalpaladar.com/2006/10/28-los-antimicrobianos-naturales-refuerzan-la-seguridad-en-los-alimentos> fecha de consulta 06 marzo 2016.
- Campos, R., Carrillo, A.F., Loaiza, V., y Giraldo L., 2007. El calostro: herramienta para la cría de terneros. Universidad Nacional de Colombia. Departamento de ciencia animal. Palmira, Colombia. pp. 1-16.
- Cedeño, R. A. E., Padilla B. G., González M. A. A., Chamizo P. E. G., 2015. Evaluación de la calidad inmunológica del calostro por la prueba del calostrímetro y Test de Glutaraldehído en becerros recién nacidos en la Hacienda Los Ángeles, San Pedro de Macorís. UCE Ciencia. Revista de postgrado. Vol. 3(2).
- Chahin, D. J. A. 2014. Determinación de la calidad de calostro mediante la calibración de un refractómetro Brix en vacas Holstein a pastoreo. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
- Elizondo, S. J. A. 2007. Alimentación y manejo del calostro en el ganado de leche. Agronomía Mesoamericana. 18(2): 271-281.
- Elizondo, S. J. A. 2015. Concentración de inmunoglobulinas totales en calostros de vacas en explotaciones lecheras de costa rica. Agronomía Mesoamericana. 26(1): 27-32.
- Elizondo, S. J. A., Jayarao, B. M., Heinrichs, A. J. 2008. Pasteurización de calostro: efecto sobre la carga bacteriana y la concentración de inmunoglobulinas G. REDVET, vol. IX, núm. 9, Málaga, España, pp. 1-9.
- Elizondo, S. J. A., Jayarao, B. M., y Heinrichs, A. J. 2008. Pasteurización de calostro: efecto sobre la carga bacteriana y la concentración de inmunoglobulinas G. Revista electrónica de veterinaria. 9(9): 1-9.
- Elizondo, S.J.A., 2007. Pasteurización del calostro: mecanismo para disminuir la incidencia en las beceras. ECAG Informa. 40: 1-3.
- Elizondo-Salazar, J.A., Jayarao, B.M., y Heinrichs, A.J. 2010. Effect of heat treatment of bovine colostrums on bacterial counts, viscosity, and immunoglobulin G concentration. *J. Dairy Sci.* 93(3):961-967.

- Fernández, A. S., Padola N. L., Estein S. M. 1994. El calostro, fuente de transferencia de la inmunidad materna. Sitio Argentino de Producción Animal, pp. 1-5.
- Fortin, C.A.M. y Perdomo, C.J.J. 2009. Determinación de la calidad del calostro a partir de la densidad y la concentración de IgG y el número de partos de la vaca y su efecto en el desarrollo de los terneros hasta los 30 días de edad. Escuela Agrícola Panamericana. Zamorano, Honduras.
- Godden, S. 2011. Pasteurized Milk and Colostrum Feeding Systems: Capturing the Benefits and Avoiding the Pitfalls. *Tri-State Dairy Nutrition Conference*. U.S.A.
- Godden, S., S. McMartin, J. Feirtag, J. Stabel, R. Bey, S. Goyal, L. Metzger, J. Fetrow, S. Wells y H. Chester-Jones. 2006. Heat-treatment of bovine colostrum. II: Effects of heating duration on pathogen viability and immunoglobulin G. *J. DairySci.*89(9): 3476-3483.
- González, A. R., Rodríguez, H. K., Isidro R. L.M.; González J., Peña R. B. P.; Núñez G. L. E., Macías E. J. C., Robles T. P. A. 2015. Efecto de la pasteurización sobre la carga bacteriana en calostro bovino. 12º Congreso Internacional de MVZ especialistas en Bovinos de la Comarca Lagunera.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2009. Prontuario de información geográfica Municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Francisco I. Madero, Coahuila. Clave geoestadística 05035.
- James, R. E., C. E. Polan, y K. A. Cummins. 1981 Influence of administered indigenous microorganisms on uptake of [iodine-125] gamma-globulin in vivo by intestinal segments of neonatal calves. *J. Dairy Sci.* 64:52-61.
- Lozic, S.S.A., calibración de refractómetro Brix para la determinación del contenido de inmunoglobulina G en el calostro bovino. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
- McGuirk, S.M y M. Collins. 2004. Managing the production, storage and delivery of colostrum. *Vet Clin North Am Food AnimPract.* 20(3):593-603.
- Muños, V.A., Sáenz, G.A., López, L.L., Cantú, S.L., y Barajas, B.L. 2014. Ácido cítrico: compuesto interesante. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila.* 6(12):1-6.
- Nychas, G.J.E. 1995. Natural Antimicrobials from plants. En: *New Methods of food preservation*. G.W. Gould (Ed.). Blakie Academia y Professional. Glasgow. pp. 1 -21.

- Olivares-Sáenz, E. 2012. Paquete de diseños experimentales. FAUANL. Versión 1.1 de prueba. Facultad de Agronomía Universidad Autónoma de Nuevo León. Marín, N. L., Mexico.
- Páez, F. A.L., 2015. Concentración de inmunoglobulinas de calostro bovino utilizando tecnología de membranas. Universidad Politécnica Salesiana. Quito, Ecuador. pp. 86.
- Plaza, J., Martínez Y., Ibalmea R. 2009. Respuesta del uso eficiente del calostro en los terneros de una lechería. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. Tomo 43, Número 1.
- Rivada, N.F.J. 2008. Planta industrial de producción de ácido cítrico a partir de melazas de remolacha. Universidad de Cádiz. Cádiz, España.
- Rodríguez, H. K., Salazar S. M. A., Núñez H. G. 2013. Producción y calidad de calostro en el primer y segundo ordeño posparto. AGROFAZ. 13(3).
- Sánchez, S. J. E. 2015. Determinación del perfil inmune (th1 y th2) mediante análisis de citocinas en calostro bovino de ranchos lecheros del estado de Jalisco con alta prevalencia de *mycobacterium bovis*. Universidad de Guadalajara. Zapopan, Jalisco.
- Sánchez, S. J., Elizondo S. J. A. y Arroyo Q. G., 2012. Estado inmunológico de terneras y terneros de lechería en la región Huetar Norte de Costa Rica. Agronomía mesoamericana. 23(2):321-327.
- Staley, T. E. y L. J. Bush. 1985. Receptor mechanisms of the neonatal intestine and their relationship to immunoglobulin absorption and disease. *J. Dairy Sci.* 68:184-205.
- Stewart, S., S. Godden, R. Bey., P. Rapnicki., J. Fetrow., R. Farnsworth., M. Scanlon, Y. Arnold., L. Clow., K. Mueller, y C. Ferrouillet. 2005. Preventing bacterial contamination and proliferation during the harvest, storage, and feeding of fresh bovine colostrum. *J DairySci.* 88, 2571-2578.
- Valderrama, X., Astudillo, R., Menares, C. y Haines D., 2004. Efecto de la suplementación con calostro bovino en polvo sobre la inmunidad pasiva y ganancia de peso en terneros Holstein nacidos en invierno y primavera. Universidad Austral de Chile.

