

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL



Efecto de la inhibición de crecimiento de microorganismos lácticos mediante el empleo de canela, cilantro y oligosacáridos de quitosán.

Por:

Karina Castillo Hernández

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el grado de:

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

Saltillo, Coahuila, México

Abril de 2011

AGRADECIMIENTOS

A Dios por haberme permitido llegar a concluir la licenciatura, por darme las herramientas necesarias para salir adelante y lograr mis objetivos.

A mis padres María Esperanza Hernández Munguía y Rafael Castillo Hernández, gracias por darme la oportunidad de ser profesionista, por confiar en mí a pesar de la distancia, por soñar conmigo y hacer suyo mi sueño, por todo el amor y los consejos que me brindaron durante todo este tiempo. Por su incondicional cariño muchas gracias.

A mis hermanos Wendy Castillo Hernández y Rafael Castillo Hernández el hecho de saber que creían en mí, su amor y sus consejos me dieron el valor y entusiasmo para llegar a donde hoy he llegado. Los quiero.

A mis sobrinos Camila Castillo Hernández, Romina Castillo Gonzáles y Mariano Rafael Castillo Hernández a pesar de que son tan pequeños son lo más grande de mi vida, les agradezco haber llegado a nuestras vidas y darnos las mejores enseñanzas, ustedes formaron una parte muy importante de crecimiento personal durante toda mi carrera, muchas gracias.

A mi “ALMA MATER” gracias por formarme como profesionista, por darme la oportunidad de ser un miembro más de esta gran institución, por todo el aprendizaje y las enseñanzas no sólo educacionales sino también personales.

A mis asesores Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez, MC Manuel Torres Hernández y Q.F.B. Carmen Pérez Martínez sin su ayuda nada de esto se habría logrado, gracias por su paciencia, dedicación y empeño; por haber depositado en mí su aprendizaje y su confianza.

DEDICATORIAS

A mis familiares que siempre supe que contaba con ellos y que en su momento aportaron en mi vida de estudiante grandes enseñanzas: **María Concepción Munguía Dolores, Josefina Hernández Munguía, Claudia Concepción Hernández Munguía, Imelda Hernández Díaz, Silvia Esther Morales Castillo, Karen Hernández García, Pamela Hernández, Javier Ramos Hernández, Javier Ramos Gamas.**

A mis amigas de toda la vida que hemos estado juntas en muchos momentos especiales y que espero que sea así por siempre: **Sara Ochoa Maldonado, Tania María Escobar Fraustro, Stephanie Morales Fernández, Coraida Dinorath Zapata Cornelio, Maricela Martínez Casanova, Teresita de Jesús Dávila Flores.**

A los amigos y amigas que conocí durante mi época de estudiante de licenciatura y que nunca voy a olvidar aunque tomemos rumbos distintos porque han dejado en mí todos los mejores recuerdos de este tiempo: **Ariday Salinas Zárate, Ma. Del Carmen Piñeyro García, Elena Martínez Morgado, Karla Serrano Almodóvar, Rosalino Sanabria Mendoza, Gilberto David Romero Leguizamón, Tere Bautista Castillo, Ana Belly Aguilar Vázquez.**

A la familia **González Aguirre**, en especial a **Carlos Javier González Aguirre.**

***A MIS PADRES MARÍA ESPERANZA HERNÁNDEZ MUNGUÍA Y RAFAEL
CASTILLO MEDINA, USTEDES SON LO MEJOR DE MI VIDA Y POR TODO EL
AYER LES DEDICO TODO MÍ MAÑANA***

ÍNDICE GENERAL

| | |
|--|----|
| RESUMEN | 1 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 2 |
| 1.1 Antecedentes | 2 |
| 1.2 Justificación | 3 |
| 1.3 Hipótesis | 3 |
| 1.4 Objetivo general | 3 |
| 1.5 Objetivos específicos | 4 |
| 2. REVISIÓN DE LITERATURA | 5 |
| 2.1 Suero | 5 |
| 2.2 Caracterización físico-química del suero resultante de la elaboración de quesos | 6 |
| 2.3 Aplicaciones del suero de queso | 9 |
| 2.3.1 Industria de alimentos | 11 |
| 2.3.2 Industria pecuaria | 13 |
| 2.4 Inhibidores de crecimiento de microorganismos | 19 |
| 2.4.1 Quitosán | 21 |
| 2.4.1.1 Actividad antimicrobiana del quitosán | 21 |
| 2.4.1.2 Aplicación del quitosán en la industria alimentaria | 22 |
| 2.4.2 Antimicrobianos naturales de origen vegetal | 23 |
| 2.4.2.1 Canela | 25 |
| 2.4.2.2 Cilantro | 28 |
| 2.4.2.3 Orégano | 29 |
| 3. MATERIALES Y MÉTODOS | 31 |
| 3.1 Caracterización físico-química del suero | 31 |
| 3.1.1 pH | 31 |
| 3.1.2 Acidez | 31 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 3.1.3 | Densidad | 32 |
| 3.2 | Análisis de minerales en el suelo | 32 |
| 3.2.1 | Análisis de calcio (Ca) y potasio (K) | 32 |
| 3.2.2 | Análisis de fósforo (P) | 33 |
| 3.3 | Análisis de bromatológico del suero | 33 |
| 3.3.1 | Determinación de proteína | 34 |
| 3.3.2 | Determinación de cenizas | 35 |
| 3.3.3 | Determinación de grasa | 36 |
| 3.4 | Cuenta total de microorganismos presentes en el suero | 37 |
| 3.4.1 | Preparación del agar | 37 |
| 3.4.2 | Crecimiento en medio sólido | 38 |
| 3.5 | Empleo de inhibidores de crecimiento en suero de leche | 38 |
| 3.5.1 | Preparación de caldo nutritivo | 38 |
| 3.5.2 | Crecimiento en medio líquido | 38 |
| 4. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 40 |
| 4.1 | Caracterización físico-química del suero | 40 |
| 4.2 | Análisis bromatológico del suero | 40 |
| 4.3 | Contenido de Ca, P y K en el suero | 42 |
| 4.4 | Cuenta total de microorganismos presentes en el suero de leche dulce | 43 |
| 4.5 | Empleo de inhibidores de crecimiento del suero de leche | 45 |
| 5. | CONCLUSIONES | 51 |
| 6. | RECOMENDACIONES | 52 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Curva de inhibición de bacterias en caldo nutritivo más suero de queso dulce con canela a diferentes concentraciones | 45 |
| Figura 2. Curva de inhibición de bacterias en caldo nutritivo más suero de queso dulce con cilantro a diferentes concentraciones | 47 |
| Figura 3. Curva de inhibición de bacterias en caldo nutritivo más suero de queso dulce con oligosacáridos de quitosán a diferentes concentraciones | 49 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | |
|--|----|
| Cuadro 1. Indicadores físico-químicos del suero dulce y ácido | 10 |
| Cuadro 2. Composición química del suero de queso | 19 |
| Cuadro 3. Plantas utilizadas como saborizantes en alimentos y con actividad antimicrobiana | 24 |
| Cuadro 4. Aceites esenciales y sus componentes con actividad antimicrobiana | 27 |
| Cuadro 5. Caracterización físico-química del suero de queso dulce | 40 |
| Cuadro 6. Resultados del análisis bromatológico en el suero de queso dulce | 41 |
| Cuadro 7. Contenido de minerales en el suero de queso dulce | 42 |
| Cuadro 8. Crecimiento de UFC con monitoreo diario | 44 |
| Cuadro 9. Crecimiento de UFC cada tercer día a temperatura ambiente | 44 |
| Cuadro 10. Velocidad de crecimiento de las bacterias a diferentes concentraciones con inhibidores de crecimientos distintos | 50 |

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL

**EFFECTO DE LA INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO DE MICROORGANISMOS
LÁCTICOS MEDIANTE EL EMPLEO DE CANELA, CILANTRO Y
OLIGOSACÁRIDOS DE QUITOSÁN**

TESIS:

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

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

Presentado por:

KARINA CASTILLO HERNÁNDEZ

El presente trabajo ha sido evaluado y aprobado por el siguiente comité:

Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez
Director

M.C. Manuel Torres Hernández
Vocal

Q.F.B. Carmen Pérez Martínez
Vocal

Dr. Ramiro López Trujillo
Coordinador de la División de Ciencia Animal

Saltillo, Coahuila, México, Abril 2011.

Universidad Autónoma Agraria
"ANTONIO NARRO"



COORDINACION DE
CIENCIA ANIMAL

RESUMEN

Cada vez más la situación de contaminación al medio ambiente ha obligado al hombre a buscar formas en las cuales pueda reutilizar los derivados de algunos productos alimenticios que lanzan como desecho al medio ambiente, uno de ellos es el suero de queso que ha acarreado grandes daños al ser eliminado sin medida.

Es por ello que una de las formas en las cuales se ha utilizado el suero como subproducto, obtenido de industrias queseras, ha sido en la alimentación de las especies zootécnicas como ganado lechero y porcino. Sin embargo el suero tiene un gran contenido de bacterias que causan la fermentación e impiden que éste tenga una vida útil más prolongada sin refrigeración, ya que para su uso es necesario que diariamente se utilice suero fresco en las dietas en caso de que éste se encuentre a temperatura ambiente, de lo contrario ocasiona problemas de salud en los animales, como diarreas crónicas, que si no reciben el debido tratamiento ocasionan la muerte de los mismos.

Para esta investigación, primeramente, al suero se le realizaron una serie de pruebas que fue un análisis físico-químico y un análisis bromatológico para conocer la calidad del suero con el que se trabajó.

En esta investigación se analizó el uso de inhibidores de crecimiento bacteriano naturales: canela, cilantro y oligosacáridos de quitosán. Cada uno de ellos se añadió a un medio de cultivo junto con una muestra de suero de queso dulce, los tres inhibidores fueron utilizados en diferentes concentraciones, 0.5%, 1% y 1.5%, para conocer el comportamiento de las bacterias ante estos antimicrobianos.

Palabras clave: suero de queso dulce, alimento, inhibidores, canela, cilantro, oligosacáridos de quitosán.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

Es notorio el incremento de la producción de leche en las últimas décadas, debido a que la industria lechera se ha tecnificado de manera significativa lo cual ha provocado el procesamiento de grandes volúmenes de leche para la obtención de quesos, de ahí se deriva como subproducto el suero que puede ser de dos tipos: ácido o dulce, dependiendo del tipo de queso que se procese.

En consecuencia a lo anterior hay una alta producción de suero que no se aprovecha y es desechado en alcantarillas incrementando la contaminación ambiental en proporciones considerables. Fue un motivo para su aprovechamiento, nutrición y disminución de costos el utilizar el suero como un aditivo en la alimentación de los cerdos; las principales ventajas de utilizar el suero de acuerdo con Almaguel et al. (1993) es su contenido de lactoalbúminas, lactoglobulinas y lactosa, además que aporta una parte importante de las necesidades proteicas de la dieta, suponen una importante fuente energética. La lactosa, además, favorece la acidificación gástrica y el mantenimiento de la flora láctica intestinal, mejorando además la solubilidad y digestibilidad de la proteína, así como del calcio, sin embargo hay que tomar en cuenta que debe ser dosificado adecuadamente para que coadyuve a resolver los problemas nutricionales.

No se puede simplemente proporcionar el suero a los animales en la dieta, antecede a esto la tipificación previa a su utilización ya que es necesario determinar las formas y cantidades más adecuadas para la alimentación de los cerdos, es decir, es de vital importancia conocer qué es lo que se está ofreciendo a los animales y en qué se están beneficiando.

Se conoce sin embargo que el uso de suero de queso permite un ahorro de ración, sin afectar la velocidad de crecimiento, mejorando la eficiencia de conversión de la materia seca de la dieta (Bauza *et al.*, 2005).

1.2 Justificación

El aumento de la población mundial genera un incremento de la demanda por fuentes proteicas sin embargo es poco probable que sea suplida con la producción de carne a partir de rumiantes, al menos en el corto y mediano plazo, por ser éstos poco prolíficos y con alto intervalo entre generaciones. En cambio las especies monogástricas tales como cerdos, conejos, aves de corral y otras, pueden cumplir con esta demanda, al ser de ciclos productivos más cortos y tener otras ventajas adicionales.

Es por ello que se pretende utilizar como alternativa el suero de leche para sustituir a otros ingredientes que generan la fuente proteica.

La determinación de los componentes de este material facilitará su utilización en la alimentación de animales monogástricos (cerdos) debido a que con ello se conocerá lo que se ofrecerá a los animales y los días de utilidad del suero antes de que se fermente.

1.3 Hipótesis

Es posible la inhibición de crecimiento de microorganismos lácticos mediante el empleo de canela, cilantro y oligosacáridos de quitosán.

1.4 Objetivo general

Evaluar el efecto de la inhibición de crecimiento de microorganismos lácticos mediante el empleo de canela, cilantro y oligosacáridos de quitosán.

1.5 Objetivos Específicos

- Evaluar el contenido proteico de la materia prima mediante la técnica Kjeldahl.
- Evaluar la cuenta total de microorganismos en la materia prima.
- Evaluar el contenido de cenizas.
- Evaluar el contenido total de carbohidratos mediante técnicas espectrofotométricas.
- Evaluar el contenido de Ca, K, P en el suero de la leche mediante espectroscopia de flama.
- Determinar la vida de anaquel del suero de leche.
- Determinar pH y acidez de materia prima.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Suero

La fabricación de queso ha dado inevitablemente lugar a la producción de una gran cantidad de suero, (aproximadamente 83%). Resulta difícil separar el problema de la eliminación del suero, ya que la eliminación de aquel, se está convirtiendo en un problema industrial y de salud pública. El suero contiene nutrientes muy valiosos, por eso no debe ser desechado, sino aprovechado para la alimentación humana y del ganado.

Los sueros de quesería varían de acuerdo con el tipo de queso elaborado y por tanto también su contenido en proteínas, ácido graso, lactosa o ácido láctico. Es de importancia secundaria, siendo de mayor interés la obtención de un suero de poca acidez. Los sueros obtenidos durante el corte de la cuajada de los quesos texturizados y no texturizados, son menos ácidos que los que se obtienen durante la texturación o el prensado.

Los del prensado suelen tener una elevada concentración de sal, por lo que no pueden emplearse directamente para la alimentación del ganado. La concentración de lactosa en el suero es bastante constante pero depende de la producción de lactosa original.

El contenido proteico depende en su mayor parte del tipo de coágulo y de su tratamiento y la presencia en el mismo de partículas de cuajada puede aumentarla considerablemente. El porcentaje de grasa depende en su mayor parte del tratamiento, el contenido en sales suele ser bastante constante, depende de la adición a la leche de algunos compuestos como nitrato y muy especialmente de cloruro o hidróxido cálcicos.

El suero requiere antes de su utilización una pasteurización para destruir los microorganismos presentes. Es esencial proceder a su neutralización y subsiguiente desmineralización. Esta puede realizarse por intercambio iónico o por electrodiálisis, eliminando las sales a través de membranas adecuadas.

Tradicionalmente el suero producido se ha ido empleando para la alimentación de los cerdos. Por otro lado se ha tomado conciencia de su elevado valor nutritivo, tanto como para el hombre como para animal.

También se utiliza para piensos para aves y cerdos. Suplementario del valor nutritivo del pan. Inclusión en alimentos para niños o inválidos y para alimentos dietéticos. Bebidas carbonicas y bebidas fermentadas. Precipitados de albúmina utilizado con suplemento del valor nutritivo de algunos elementos. Preparados cosméticos y farmacéuticos, fabricación de alcohol, fabricación de galactita/glucosa, fabricación de lactosa. Queso de suero, ricotta, requesón etc., aislamiento de riboflavina, fabricación de ácido láctico para la industria general, farmacéutica o alimentaria. Con media fermentación para la fabricación de antibióticos, combustibles (metano), biomasa para la producción de alimentos o fabricación de jarabes de galactita, para pastelería o fabricación de cerveza (Barrientos, 1997).

2.2 Características fisicoquímicas del suero resultante de la elaboración de quesos

En aras de aprovechar el suero de quesería, se inició con la separación del mismo en sus constituyentes.

Este subproducto de la industria láctea atrajo la atención de una nueva generación de científicos a partir de los años 1980's, quienes pusieron de relieve sus beneficios alimentarios y nutricionales (Miranda *et al.*, 2009).

El suero de queso es un recuso alimenticio de reconocido valor nutricional, resaltando su alto contenido en lactosa (60-70% de la materia seca), proteína (12-14% de la materia seca) y minerales (7-11% de la materia seca). La proteína del suero es de alta digestibilidad y su balance aminoacídico considerado superior al de las proteínas de huevo y caseína, siendo particularmente elevado su aporte en lisina, triptófano y aminoácidos azufrados (Pokniak *et al.*, 2007).

La obtención de importantes volúmenes anuales de leche trajo consigo la construcción de varios establecimientos dedicados a la manufactura de diferentes variedades de queso, quienes producen grandes cantidades de suero de queso. Para evitar mayores daños al medio ambiente circundante, estos subproductos pudieran utilizarse en la elaboración de alimentos destinados tanto a seres humanos como animales.

La caracterización físico-química de los sueros de queso constituye entonces un paso importante en la utilización de estos subproductos de la industria láctea en los distintos procesos industriales (Miranda *et al.*, 2009).

Se presentan a continuación las características físico-químicas de las variedades dulce y ácida de sueros de quesos. La acidez baja favorece la calidad del suero, porque permite un mejor aprovechamiento de éste, tanto para la alimentación humana como la animal. Resultados similares a éstos fueron reportados por investigadores que desarrollaron un alimento para el engorde de cerdos a partir de suero de queso ácido. La acidez encontrada en este subproducto fue del 0.37%, mientras que el pH fue de 4.5.

El descenso en el contenido de lactosa del suero de queso ácido podría ser el resultado de la actividad fermentativa de los microorganismos incorporados a la materia prima láctea durante la fabricación de quesos. Entre los cultivos lácticos que se inoculan

para provocar acidez y aroma se encuentran bacterias ácido-lácticas como *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*: propias del yogur, que desdoblan la lactosa: el disacárido estructural de la leche, en ácido láctico, y por consiguiente, causan un descenso del contenido del mismo en el suero de queso ácido. Otros autores han reportado un contenido de lactosa superior para un suero de queso Ricota empleado en la elaboración de una bebida láctea.

El contenido de materia seca de ambos tipos de sueros es similar. Este resultado se explica porque cerca del 83.0% del contenido total del suero se queda en el queso.

Este indicador es de gran peso en la evaluación de la calidad del suero de queso como materia prima, porque indicaría el contenido de agua del mismo: una mayor cantidad de agua demerita al suero de queso como alimento, y conspira de forma negativa llegada la hora de la transportación.

La densidad de estos sueros de queso se reporta baja cuando se compara con la propia de la leche. Hay que recordar que la mayor parte de los sólidos de la leche se concentran en el queso. Los valores de densidad de los sueros de quesos son similares al igual que el calcio, sin embargo el suero de queso dulce en estudios que se han realizado ha demostrado numéricamente mayor contenido de calcio.

El contenido de calcio que se ha encontrado es de 0.60 y 1.00%, respectivamente, para las variedades dulce y ácida. Por su parte, el contenido de fósforo se encuentra alrededor de 0.60 y 0.91%, respectivamente.

El contenido de proteína bruta se ha encontrado numéricamente menor en el suero de queso ácido, lo que pudiera estar asociado a las transformaciones químicas que ocurren por el desdoblamiento de las proteínas cuando estos subproductos son fermentados producto de la adición de bacterias acidolácticas.

La composición físico-química del suero de queso puede depender de la inclusión durante el proceso industrial primario de bacterias ácido-lácticas (cuadro 1). Las características físico-químicas del suero de queso podrían determinar el destino último de este subproducto en la producción de alimentos tanto para el consumo humano como animal (Miranda *et al.*, 2009).

Cuadro 1. Indicadores físico-químicos del suero de queso dulce y ácido.

| Indicador | Suero de queso dulce | Suero de queso ácido | Especificación de calidad |
|------------------------------|----------------------|----------------------|---------------------------|
| pH | 6.620±0.800 | 4.220±0.500* | 6.600±0.600 |
| Acidez, % | 0.080±0.020 | 0.320±0.020* | 0.100±0.300 |
| Densidad, g.cm ⁻³ | 1.025±0.020 | 1.024±0.010 | 1.024±0.010 |
| Materia seca, % | 6.410±0.700 | 6.400±0.600 | 6.400±0.211 |
| Grasa, % | 0.330±0.010 | 0.330±0.020 | 0.330±0.100 |
| Proteína bruta, % | 0.960±0.040 | 0.940±0.030 | 0.900±0.500 |
| Lactosa, % | 4.670±0.600 | 4.100±0.050* | 4.700 ±.700 |
| Calcio, % | 0.530±0.020 | 0.510±0.050 | 0.500±0.800 |
| Fósforo | 0.330±0.030 | 0.310±0.020 | 0.300±0.300 |

Se muestran la media ± desviación estándar de las determinaciones realizadas en 10 muestras de suero dulce y ácido de queso, respectivamente. Leyenda *: diferencias entre sueros: p<0.05 (Miranda *et al.*, 2009).

2.3 Aplicaciones del suero de queso

De acuerdo a un trabajo de la FAO, el suero, residuo líquido de la fabricación de queso y caseína, es una de las mayores reservas de proteínas alimentarias que quedan todavía fuera de los canales del consumo humano. Resulta paradójico que aún en la actualidad se siga desperdiciando una gran proporción de los litros totales que se

generan día a día. Tradicionalmente, se consideraba al suero como un elemento no deseable, de escaso interés y de alto costo de eliminación.

La práctica más común ha sido sencillamente verterlo en los cursos de agua, lo que es muy perjudicial desde el punto de vista ambiental. En efecto, se ha podido estimar que una fábrica de queso que procesa 280.000 litros de leche cruda por día, por ejemplo, produce alrededor de 250.000 litros de suero líquido y puede contaminar tanta agua como una ciudad de 50.000 habitantes.

Schaller (*s/f*) señala que una práctica menos perjudicial ha sido y es de uso muy frecuente: el suministro a los terneros o cerdos para complementar su alimentación.

Con el desarrollo de la industria quesera, resultó evidente que estas soluciones tradicionales no eran suficientes para afrontar el problema de la eliminación del suero.

Se elaboraron reglamentos anticontaminación que se fueron aplicando progresivamente en los países donde más abundante es la producción de sueros, lo que obligó a los fabricantes de quesos a elaborar el suero o a disponer instalaciones propias de eliminación, lo que repercutía negativamente en los rendimientos por unidad.

Como la primera de las dos posibilidades era el menor de los dos males, la industria se esforzó por desarrollar sus instalaciones, especialmente para el secado, y tratar de encontrar nuevos usos para el suero. La producción de suero en polvo, principalmente para utilizar en la alimentación animal, resultó la solución más económica y, en realidad, esta forma de industria se ha desarrollado considerablemente en los últimos decenios. Al mismo tiempo, se comenzó a utilizar el suero para consumo humano, como ingrediente de toda una gama de productos de uso alimentario y no alimentario.

Si bien es cierto que el vertido del suero en los cursos de agua continúa siendo un grave problema ambiental principalmente en los países en desarrollo, esta práctica se ha reducido mucho sobre todo en los países industrializados gracias a la aplicación estricta de medidas contra la polución.

Paralelamente, estas medidas contribuyeron también a intensificar la investigación sobre los usos alternativos del suero, constituyendo así un ejemplo del modo en que los incentivos y la reglamentación pueden inducir a que las mismas industrias transformen los residuos contaminantes que generan en productos de alto valor agregado para su propio beneficio (Schaller s/f).

2.3.1 Industria de alimentos

El suero y los concentrados proteicos se han utilizado cada vez más como ingredientes versátiles en la elaboración de alimentos, tanto para mejorar su calidad como su funcionalidad (efectos benéficos para la salud). El suero en polvo, por ejemplo, puede sustituir el agregado de leche en polvo descremada, aportando proteínas de alta calidad a casi la mitad del costo y reduce el agregado de endulzantes que son reemplazados por la lactosa. En la actualidad se ha utilizado lactosuero en la fabricación de alimentos lácteos (helados, yogur, untables), productos cárnicos (carne procesada, embutidos), panificados (bases para pasteles, galletitas, barras nutritivas), productos de confitería (chocolates, coberturas, caramelos) y bebidas (mezclas con cacao, crema para café, bebidas para deportistas).

Una gama de productos de alto valor agregado derivados del lactosuero son los reemplazantes de la grasa. Desde el punto de vista tecnológico, pueden servir para solucionar algún requerimiento en lo que son las propiedades organolépticas y de textura de un alimento. Pero su principal utilidad es desde el punto de vista nutricional o de la salud del consumidor. (Engler., 2003).

La versatilidad del suero es sorprendente pues además de producir lo antes mencionado se pueden agregar a su amplia gama de utilidades los siguientes subproductos:

- a) Palmitato de lactitol (emulsificante).
- b) Lactosil urea. Utilizado como fuente de Nitrógeno no proteico en alimentos balanceados resulta en una mejor utilización del Nitrógeno en rumiantes por su lenta hidrólisis, sin el riesgo de que se alcancen niveles tóxicos de amoniaco.
- c) Lactato de amonio. Inoculando el suero con algún microorganismo ácido láctico, por ejemplo *L. bulgaricus* y mediante neutralización continua con hidróxido de amonio; se suele concentrar la mezcla de reacción hasta 60% de sólidos para poder incorporarlo en alimentos balanceados (a esa concentración se puede agregar hasta un 25%).
- d) Biomasa. La fermentación con una levadura bajo condiciones aerobias estrictas puede resultar hasta en un 45% de proteína, que también se puede utilizar en la alimentación animal.
- e) Metano. En la medida que el gas natural continúe aumentando en precio, ésta alternativa de llegar a producir metano por fermentación de suero bajo condiciones anaerobias estrictas puede resultar viable pues por cada tonelada de lactosa se puede llegar a producir hasta .25 toneladas de gas.
- f) Alcohol. Se ha estado debatiendo mucho sobre el impacto en costo que produjo el derivar la producción de maíz para la producción de bio combustibles, y es el momento de considerar la utilización del suero en lugar de desecharlo, vía fermentación (por ejemplo con *Kluyveromices fragilis*) para producir alcohol. En condiciones prácticas 1 tonelada de lactosa en el sustrato de fermentación llega a producir 0.45 toneladas de etanol.
- g) Antibióticos (sobre todo la penicilina).

- h) Otros. En vista de que el suero se genera en grandes volúmenes, cualquier salida que se le quiera dar debe contemplar la utilización del mismo en cantidades similares, y por eso resulta útil considerar convertir el suero en bebidas de consumo directo.

La posibilidad de utilizarlo en la producción de bebidas carbonatadas ha sido considerada magnífica pues México es uno de los países con mayor consumo per cápita de este tipo de bebidas, 82.3% de la población las consume a diario resultando en un promedio de 0.6 litros/día o 3.5 litros por semana, independientemente del nivel educativo. Por tanto, conviene plantear la alternativa de utilizar el suero para la producción de bebidas pero dándole el giro que está tomando este segmento: introduciendo elementos que las hagan “funcionales”, para que tomen un papel más activo en la promoción de las condiciones generales de salud. (Valencia., 2009).

2.3.2 Industria pecuaria

En las granjas y establos productores se ha conocido que cerca del 70% del costo total de producción se destina a la alimentación de los animales sin importar la especie que se explote, es por ello que una de las finalidades que se sigue buscando hasta estos días es reducir el costo de la dieta que se les suministra.

En otros tiempos, cuando las distancias entre las plantas productoras de queso y los ranchos ganaderos o las granjas porcícolas eran menores, se podía recolectar el suero líquido y emplearlo como tal para alimentar a las vacas, becerros o cerdos, pero conforme esta distancia se ha ido incrementando, el transporte de ese volumen ha constituido un costo de consideración para optar por otras alternativas.

Se hicieron numerosos estudios para optimizar las raciones de vacas en lactación y de becerras, pero en conclusión se dijo que: el enfriamiento del suero es un factor importantísimo para la consistencia del abasto (y por tanto un costo adicional también); que en rumiantes si el suero no es tratado, hay que tomar en cuenta que altas dosis de minerales provocan un incremento en el volumen de orina, así como alta concentración de lactosa puede provocar diarrea; que 40kg de suero equivalen a 1kg de alimento balanceado; que el suero ácido provoca desgaste acelerado de los dientes en el ganado y corrosión en los tanques de almacenaje; que el suero condensado se considera de igual valor nutritivo que la melaza; que el suero condensado y fermentado (*Lb. acidophilus* o *Lb. bulgaricus*), neutralizado con hidróxido de amonio, con un contenido aproximadamente 60% de sustancia seca ha demostrado su eficacia en disminuir la tasa de mortalidad de las becerras.

La incorporación de un 1% de suero en polvo a un ensilado de maíz condujo a un incremento en el rendimiento de leche del 6.5%, y una ganancia en el peso del 7% en becerras (Valencia., 2008).

Con respecto a lo anterior se confirmó que tenemos la oportunidad de utilizar alimentos alternativos que nos permitan la disminución de costos en el periodo de engorda de los animales, y además que de igual forma el alimento es capaz de cubrir los requerimientos de los animales en cada etapa de crecimiento.

En 1968 se realizó el primer experimento en donde se utilizaba al suero como parte de la dieta ofrecida a los cerdos, se le añadían diversas acidificaciones al agua que bebían los lechones. La respuesta a este insumo en la dieta de los animales depende de la edad de los mismos, debido al desarrollo de la secreción gástrica del cerdo, no se observó ningún beneficio cuando se proporcionó a los cerdos en etapa de finalización (Caballero *et al.*, s/f).

La alimentación de los animales ha estado basada en una lista de ingredientes “convencionales” asentada en la combinación de alimentos concentrados (como ejemplo maíz/harina de soya).

Estos sistemas de alimentación, que han sido la plataforma para las determinaciones de requerimientos nutricionales realizadas en los centros de investigación de los países desarrollados, tienen su razón de ser y validez indiscutida en esos países. Sin embargo, esta no es necesariamente la base de los sistemas de alimentación para un número muy importante de productores de cerdos de los países en desarrollo, donde la disponibilidad de alimentos y las realidades económicas determinan sistemas de producción distintos a esos modelos.

El mercado de granos y oleaginosas ha elevado en forma considerable los precios de los insumos convencionales para la elaboración de raciones, en una progresión ascendente que los expertos opinan que se habrá de mantener. Por otra parte, la posibilidad de aumentar los precios de la carne choca con la limitante del poder adquisitivo de los consumidores. En esta encrucijada, el mantenimiento de la rentabilidad de las producciones intensivas solo tiene dos alternativas: mejorar los índices productivos y económicos mediante una intensificación y concentración de la producción o bajar los costos de producción por la adopción de sistemas de baja inversión y uso de alimentos de menor costo. La primera opción es la que han tomado las grandes empresas, para lo cual en general requieren de una importante inversión y explica la acelerada concentración de la producción a nivel mundial en un número cada vez más reducido de “mega empresas”.

En el otro extremo un número muy alto de productores pequeños y medianos, cuya contribución al total de cerdos faenados es cada vez menor ha realizado una búsqueda constante de opciones que le permitan mantenerse en la producción; para este tipo de productor la alimentación representa bastante más que el convencional 70% y por lo tanto se recurre a la vía de conseguir alimentos baratos.

Se estableció que el 27 % de los cerdos son alimentados exclusivamente en base a ración, mientras que en el 94 % de las explotaciones se realiza una complementación entre la ración concentrada y algún tipo de alimento alternativo (Bauza., 2007).

En muchas ocasiones se planteó una falsa distinción entre la producción de cerdos basada en la utilización de raciones balanceadas y la producción en base a alimentos alternativos asociando que los cerdos provenientes de sistemas de alimentación “no convencionales” son animales de mala calidad y provienen de sistemas de producción rústicos, de bajo nivel tecnológico y condiciones sanitarias deficitarias. Son afirmaciones que se sustentan en la observación de casos donde estas situaciones se dan. Pero esta simplificación y generalización conceptual le hace mucho daño al desarrollo y aceptabilidad en el mercado de la carne de cerdo (Bauza., 2007). Es por ello que el pequeño productor se vio afectado y el consumidor no ha tenido seguridad sobre las condiciones en que son producidos los cerdos.

Del punto de vista nutricional no han habido razones a priori que sustenten la teoría de que la utilización de alimentos alternativos como parte de la dieta da origen a un producto de segunda calidad, en la medida que se respeten los criterios básicos de aporte/balance de nutrientes y de relación entre las características de los nutrientes ingeridos con los tejidos corporales depositados.

Cuando se ha plateado la utilización de alimentos no convencionales ha sido de necesidad realizar una serie de consideraciones previas, que han contribuido a condicionar y/o restringir su utilización. Desde el punto de vista técnico, y contrariamente a lo que popularmente se piensa, el uso correcto de estos alimentos tiene más dificultades que el planteo de un sistema de alimentación basado en alimentos convencionales, donde se conocen ampliamente los requerimientos de los animales, así como el aporte nutritivo y las condiciones de utilización de esos alimentos.

Como criterio general, se ha concientizado que, al igual que los alimentos convencionales, su aporte nutritivo no permite cubrir todos los requerimientos de los animales, por lo que se deben integrar como un componente de la dieta a complementar con otros alimentos. El hecho que estos ingredientes han tenido un precio accesible en algunos casos permite tolerar algunas ineficiencias, pero no podemos llegar al extremo de comprometer la conformación corporal o la calidad del producto final de los animales producidos.

En todos los trabajos de estudio del suero como alimento para cerdos se ha destacado la capacidad de estos animales para consumir altas cantidades, evolucionando desde los 12 l/día a los 25 kg de peso vivo hasta aproximadamente 30 l/día a los 100 kg. El consumo es afectado por la temperatura ambiente, el grado de conservación del suero (cuando se almacena por varios días se producen alteraciones que afectan su palatabilidad) y el aporte de alimento concentrado. Como criterio general, se ha recomendado favorecer el consumo de suero y reducir al mínimo el de ración, siendo posible reducir el aporte de ración en un 50%, sin afectar las performances de crecimiento, con una importante ventaja en la eficiencia de conversión.

Si bien se trata de un alimento que ha sido consumido por todas las categorías, por sus características de voluminoso, se adapta mejor en las categorías con mayor

capacidad de consumo: recría-terminación y reproductores. Se reportó que puede ser la base de la alimentación en cerdas gestantes y sustituir una importante proporción de la ración concentrada en lactación. En este último caso se destacó su efecto favorable sobre la producción de leche.

En el caso de los lechones (destetados o lactantes) la inclusión de suero para el remojado del alimento concentrado ha tenido un efecto muy favorable sobre el consumo, pero su función se ha limita prácticamente a esto, no siendo considerado su aporte nutritivo (Bauza., 2007).

La alimentación del cerdito postdestete es uno de los aspectos más importantes que se ha considerado en cualquier programa alimentario de cerdos por su efecto sobre los rendimientos productivos posteriores (Hancock 1995). Se consideró ventajoso utilizar alimentos líquidos o semilíquidos en la dieta de estos animales. Varios investigadores han llevado a cabo pruebas informando que en general, se ha logrado una mayor ingesta de alimento y un mejor desarrollo de la mucosa intestinal, lo cual es importante para mantener la integridad intestinal y evitar así trastornos digestivos (Mahan *et al.*, 1993; Thacker., 1999; Le Dividich., 1998).

Los sueros lácteos son productos que, gracias al contenido en lactoalbúminas, lactoglobulinas y lactosa, además de aportar una parte importante de las necesidades proteicas de la dieta, suponen una importante fuente energética (cuadro 2). La lactosa, además, favorece la acidificación gástrica y el mantenimiento de la flora láctica intestinal, mejorando además la solubilidad y digestibilidad de la proteína, así como del calcio (Mahan *et al.*, 1993).

Cuadro 2. Composición química del suero de queso.

| Base | BH | BS |
|-----------------------------------|-----------|-----------|
| Materia seca % | 3.7 | 100 |
| Proteína % | 0.6 | 15 |
| Extracto al éter % | 0.03 | 0.8 |
| Energía digestible Mcal/Kg | 0.125 | 3.39 |

(Fuente: *Facultad de Agronomía, Laboratorio de Nutrición Animal., 2007*). BH: Base húmeda; BS: Base seca.

Barlocco (1991) y Penner *et al.*, (1992) concluyeron que suministrando una cantidad diaria fija de alimento concentrado durante todo el periodo de recría-engorde, el animal aumentó gradualmente el consumo de suero, manteniendo la tasa de crecimiento. Se observó que cerdos recibiendo alimento concentrado junto con voluminosos son capaces de mantener el consumo de materia seca (MS) total, variando el de voluminoso.

Ensayos realizados por Bauza *et al.*, (2003) afirmaron que el cerdo es capaz de ingerir, a través del consumo de suero, importantes cantidades de MS, lo que permitirá ajustar dietas con menor proporción de concentrado.

Atendiendo al hecho de que cuando el suero se ha almacenado por varios días se han producido alteraciones físico-químicas que afectan la palatabilidad del mismo influyendo directamente sobre los animales; es de considerar entonces conocer el periodo de uso del suero y además proveer a los productores pecuarios alternativas para retrasar la fermentación del mismo y que éste tenga una vida útil más prolongada.

2.4 Inhibidores de crecimiento de microorganismos

La demanda de alimentos procesados se ha incrementado con el crecimiento de la población mundial de manera considerable, esto a su vez, ha implicado un cambio de estilo de vida.

A pesar de las diferentes técnicas de conservación disponibles, la alteración de alimentos por parte de los microorganismos, es un problema no controlado del todo.

El uso de agentes químicos es uno de los métodos de conservación más antiguos y tradicionales que han existido, sin embargo, no cumplen con el concepto de natural o seguro que los consumidores demandan. Cada día se introducen al mercado nuevos productos que responden a las necesidades de una vida útil más larga y la seguridad de que están libres de microorganismos deteriorativos o patógenos.

Los microorganismos y los procesos bioquímicos son las principales causas de alteración de los alimentos (Anónimo., s/f).

Hubo una necesidad de añadir menos productos químicos como conservadores de alimentos ya que éstos son sospechosos de poseer cierto grado de toxicidad. Es así, como los productores de alimentos han sido forzados a tratar remover completamente el uso de antimicrobianos químicos o adoptar alternativas naturales para el mantenimiento o extensión de la vida útil de sus productos.

Los compuestos antimicrobianos pueden ser compuestos sintéticos adicionados de manera intencional o de ocurrencia natural que pueden ser utilizados comercialmente como aditivos para la preservación de los alimentos.

Una amplia variedad de sistemas antimicrobianos naturales, han sido desarrollados a partir de microorganismos, plantas y animales, muchos de los cuales ya han sido empleados para la conservación de los alimentos y otros están siendo investigados (Anónimo., s/f).

2.4.1 Quitosán

Los OQ son polímeros de hasta 20 monosacáridos. La unión tiene lugar mediante enlaces glucosídicos. Los OQ son amino azúcares de bajo peso molecular. Estos oligosacáridos son una mezcla de oligómeros de D-glucosamina con grado de polimerización de 20.3 y un peso molecular de aproximadamente 2000 Da (Pérez., 2009).

Este polisacárido, que en medio ácido presenta carga positiva, se obtiene por desacetilación de la quitina y está constituido por unidades de glucosamina con uniones β (1 \rightarrow 4) (Hirano y Nagao, 1989). El quitosán presenta actividad antibacteriana y antifúngica, es biocompatible, bidodegradable y no tóxico (Shahidi *et al.*, 1999). El quitosán es un biopolímero con actividad antimicrobiana que se utiliza para la obtención de recubrimientos. Este polisacárido, que en medio ácido presenta carga positiva, se obtiene por desacetilación de la quitina y está constituido por unidades de glucosamina con uniones β (1 \rightarrow 4) (Hirano y Nagao, 1989). El quitosán presenta actividad antibacteriana y antifúngica, es biocompatible, bidodegradable y no tóxico (Shahidi *et al.*, 1999).

2.4.1.1 Actividad antimicrobiana del quitosán

La actividad antimicrobiana de la quitina, el quitosán, y sus derivados contra los diferentes grupos de microorganismos, tales como bacterias, levaduras y hongos, ha recibido una atención considerable en los últimos años.

Los dos mecanismos principales que se han sugerido como la causa de la inhibición de las células microbianas por el quitosán son:

- 1) La interacción con los grupos aniónicos en la superficie celular, debido a su naturaleza policationica, provoca la formación de una capa impermeable alrededor de la célula, lo que impide el transporte de solutos esenciales. Se ha demostrado por microscopía electrónica que el sitio de acción es la membrana externa en las bacterias Gram negativas. El efecto permeabilizante se ha observado en condiciones ligeramente ácido en el que el quitosán es protonado, pero este efecto permeabilizante de quitosán es reversible.
- 2) El segundo mecanismo consiste en la inhibición del ARN y la síntesis de proteínas por la penetración en el núcleo de la célula (Avenidaño, 2010).

2.4.1.2 Aplicación del quitosán en la industria alimentaria

El quitosán ofrece una amplia gama de aplicaciones únicas en la industria alimentaria, incluida la conservación de los alimentos debido al deterioro por microorganismos, formación de películas biodegradables y la recuperación de materiales de desecho del procesado de alimentos. Por otra parte, puede actuar como fibra dietética y como ingrediente de alimentos funcionales (Aranaz *et al.*, 2009).

El quitosán ha sido aprobado como alimento funcional en algunos países asiáticos (Japón, Corea) durante la última década. La inclusión de la quitina y el quitosán fueron considerados en 2003 por la Comisión de Codex Alimentarius, pero en la actualidad no figura en la Norma General para los aditivos alimentarios ni ha sido autorizado como nuevo ingrediente alimentario en la UE. Aunque varios estudios han demostrado que este compuesto no es tóxico, no existen estudios reportados a largo plazo de la seguridad humana.

El quitosán ha sido identificado como un biopolímero versátil de origen natural para la conservación de alimentos debido a su acción antimicrobiana contra los microorganismos que ocasionan el deterioro de los alimentos, así como de su propiedad

antioxidante. La solubilidad depende del pH, lo que le permite adoptar diversas formas (bolas, películas y membranas) utilizando procesos acuosos (Avendaño, 2010).

2.4.2 Antimicrobianos naturales de origen vegetal

Plantas, hierbas y especias, así como sus aceites esenciales, contienen un gran número de sustancias con propiedades que inhiben la actividad metabólica de bacterias, levaduras y mohos. Se han reportado más de 1340 plantas como potenciales fuentes de antimicrobianos. Los compuestos antimicrobianos de las plantas, se encuentran generalmente en el aceite esencial obtenido a partir de hojas, flores, bulbos, rizomas y frutos. Estos compuestos pueden ser letales para las células microbianas o simplemente servir como inhibidores de la producción de metabolitos.

El primer reporte del uso de las especias como conservadores se remonta a unos 1,550 años a.C., cuando los antiguos egipcios las empleaban para conservar alimentos y embalsamar a los muertos (Davidson, 2001).

Los sitios de acción de los agentes microbianos en la célula microbiana, incluye a la membrana celular, pared celular, enzimas metabólicas síntesis de proteínas y el sistema genético, todos ellos estratégicos para la supervivencia de los microorganismos y cualquier acción sobre ellos puede activar a la célula microbiana. Con estudios realizados se ha dado a conocer que los compuestos utilizados como antimicrobianos tienen varios sitios de ataque dentro de las células microbianas y que dependiendo de las concentraciones utilizadas dentro de los alimentos (cuadro 3), pueden causar la inhibición o inactivación de los microorganismos (Anónimo., s/f).

Cuadro 3. Plantas utilizadas como saborizantes en alimentos y con actividad antimicrobiana.

| Planta | Nombre Científico |
|---------------|----------------------------------|
| Ajedrea | <i>Satureja hortensis</i> |
| Ajo | <i>Allium sativum</i> |
| Albahaca | <i>Ocimum basilicum</i> |
| Alcaravea | <i>Carum carvi</i> |
| Anís | <i>Pimpinella anisum</i> |
| Azafrán | <i>Crocus sativus</i> |
| Canela | <i>Cinnamomun zeylanicum</i> |
| Cardamomo | <i>Elletaria cardamomun</i> |
| Cebollines | <i>Allium schoenoprasum</i> |
| Cilantro | <i>Coeriandum sativum</i> |
| Clavo | <i>Syzygium aromaticum</i> |
| Comino | <i>Cuminum cyminum</i> |
| Cúrcuma | <i>Cúrcuma longa</i> |
| Eneldo | <i>Anteum graveolens</i> |
| Estragón | <i>Artemisa dracunculus</i> |
| Hinojo | <i>Foeniculum vulgare</i> |
| Jengibre | <i>Zingiber officinale</i> |
| Laurel | <i>Laurus nobilis</i> |
| Macis | <i>Myristica fragans</i> |
| Mejorana | <i>Origanun majorana</i> |
| Menta | <i>Mentha vulgaris</i> |
| Mostaza | <i>Brassica hirta, B. juncea</i> |
| Nuez moscada | <i>Myristica fragans</i> |
| Perejil | <i>Petroselinum crispian</i> |

| | |
|---------------------|-------------------------------|
| Perifollo | <i>Anthriscus cerefolium</i> |
| Pimienta | <i>Piper nigrum</i> |
| Pimienta de Cayenne | <i>Capsicum frutescens</i> |
| Pimienta de Jamaica | <i>Piemienta dioica</i> |
| Pimientón | <i>Campsicum annun</i> |
| Romero | <i>Rosmarinus officinalis</i> |
| Salvia | <i>Salvia officinalis</i> |
| Semilla de Apio | <i>Appium graveolens</i> |
| Té limón | <i>Cymbopogon citratus</i> |
| Tomillo | <i>Thymus vulgaris</i> |
| Vainilla | <i>Vainilla planifolia</i> |

(Fuente: López *et al.*, 1995).

2.4.2.1 Canela

Atendiendo a la necesidad de utilizar antimicrobianos naturales se han hecho investigaciones utilizando el aceite de canela como inhibidor de crecimiento de los microorganismos debido a que se estima que en la parte aérea de las plantas, la filosfera, y especialmente en las hojas, existen alrededor de 10^6 – 10^7 células/cm² (10^8 células/g) de microorganismos, principalmente bacterias (Andrews *et al.*, s/f)

Gran parte de estos microorganismos forman parte de la ecología vegetal, estableciéndose un equilibrio que se fragmenta por diversos motivos, por ejemplo con la colonización de un microorganismo patógeno. Globalmente las plantas producen más de 100, 000 productos naturales de bajo peso molecular, también conocidos como metabolitos secundarios, que se diferencian de los primarios que no son esenciales para la vida de la planta.

Esta diversidad tan rica resulta, en parte de un proceso evolutivo conducido por la selección para adquirir una defensa mejorada frente a los ataques de microorganismos, insectos y otros animales.

Estas sustancias se pueden dividir, básicamente, en dos grandes grupos: fitoanticipinas, que están presentes de forma constitutiva en las plantas, y fitoalexinas cuya presencia aumenta en forma considerable en respuesta a la invasión microbiana (Dixon, 2001).

Se han realizado estudios en donde no se ha utilizado la canela como tal sino que por medio de un método de destilación por arrastre con vapor se ha obtenido el aceite de la misma para su uso como antimicrobiano.

Los aceites extraídos de las plantas como la canela y otros provienen fundamentalmente del metabolismo secundario de los vegetales superiores en los que ejercen funciones de defensa y atracción.

Tras su producción, los aceites se almacenan en distintos órganos de la planta como en la raíz, rizomas y fruto. En general el rendimiento de la extracción es muy bajo variando entre el 0.01% y el 2%. Los aceites esenciales se caracterizan por ser una mezcla compleja de varios compuestos de aroma volátiles pertenecientes a diferentes clases de la química orgánica: hidrocarburos (compuestos terpénicos), alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, éteres y fenoles. Obteniéndose de la canela (cinamaldehído), clavo (eugenol), orégano (carvacrol), eucalito (cineol) y tomillo (timol) (cuadro 4) entre otros (*Secarúa s/f*).

Cuadro 4. Aceites esenciales y sus componentes con actividad antimicrobiana.

| Nombre Científico | Nombre Común | Parte | Componente |
|----------------------------|---------------------|------------------|-------------------|
| <i>Cinnamon</i> | Canela | Hojas | Cinamaldehído |
| <i>Oriaganum</i> | Orégano | Hojas | Carvacrol |
| <i>Syzygium aromaticum</i> | Clavo | Corteza/ Hoja | Eugenol |
| <i>Thymus vulgaris</i> | Tomillo | Flor/ Hoja | Timol |
| <i>Eucalyptus globulus</i> | Eucalipto | Hoja | Cineol |

(Fuente: Secarúa s/f).

Se han conseguido resultados satisfactorios con el uso del aceite esencial de *C. zeylanicum* (canela) en su totalidad y en particular dos de sus principales componentes, al aldehído cinámico y el eugenol individualmente presentaron actividad inhibitoria frente a cepas de *P. larvae* subs. *larvae* de diferentes orígenes geográficos (Gende s/f).

También se ha utilizado como antibiótico promotor del crecimiento en la dieta de las aves (pollos) debido a la demanda de antibióticos naturales a causa de la suspensión de los promotores de crecimiento sintéticos en el año 2006 en la Unión Europea por los posibles riesgos de creación de resistencias a antibióticos usados en la medicina humana.

Dando buenos resultados el uso del aceite de canela recomendando su utilización en combinación con otros aditivos naturales por ejemplo los acidificantes ya que se pudo demostrar un efecto sinérgico en cuanto a su mecanismo de acción (Zekaria., s/f).

2.4.2.2 Cilantro

El aceite esencial del cilantro (*Coriandrum sativum*) contiene diferentes moléculas como el cineol, el borneol, el canfeno, el citronelol, el coriandrol y el geraniol, entre otros, que son importantes porque se ha demostrado sus efectos antimicrobianos, antioxidantes, antiinflamatorios, anticancerígenos y antiespasmódicos (Romero., 2007).

El *Coriandrum sativum* demostró en estudios actividad inhibitoria, se observaron igualmente efectos promisorios en los extractos y aceites esenciales obtenidos de cilantro (Ardila *et al.*, 2009).

El aceite esencial de *Coriandrum sativum* ha sido utilizado para tratar algunas dolencias no relacionadas con las enfermedades infecciosas; sin embargo, se ha demostrado que dicho aceite esencial tiene actividad antimicrobiana frente a diferentes géneros de bacterias Gram positivas (*Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*) y Gram negativas; el efecto de esta planta se ha buscado tanto en las hojas como en las semillas y en los tallos de los mismos (Matasyoh *et al.*, 2009; Delaquis *et al.*, 2002). Un estudio reciente encontró concentraciones inhibitorias mínimas del aceite esencial de esta planta en valores que oscilaron entre 108 a 217 mg/L, con porcentajes de inhibición con respecto al cloramfenicol que variaron del 25 al 51% (Matasyoh *et al.*, 2009); en este estudio los extractos de hexano-cloroformo y hexano diclorometano produjeron inhibición del crecimiento de *Clostridium perfringens* a diluciones de 63 µl/ml (correspondiente a un porcentaje de inhibición del 71% frente a la vancomicina); sin embargo, la concentración inhibitoria mínima se obtuvo solamente con el extracto puro obtenido con la mezcla hexanocloroformo; este resultado indica que los extractos probados son capaces de inhibir el crecimiento vegetativo del microorganismo, mas no su capacidad de esporulación, ni tampoco afecta la capacidad de dichas esporas para

germinar cuando se colocan en un medio libre del extracto. El efecto antimicrobiano de esta planta se ha asociado con el linalool, el cual tiene la capacidad de inhibir incluso la esporulación (Matasyoh *et al.*, 2009); la mayor concentración del linalool se ha obtenido a partir del aceite esencial de los frutos de la planta (Burdock *et al.*, 2002; Delaquis *et al.*, 2002); a partir de los hallazgos obtenidos se podría suponer entonces que de las hojas de esta planta (el cilantro) se obtiene mayor concentración de linalool cuando se hace la extracción con la mezcla hexano-cloroformo, hallazgo que requeriría ser corroborado con el uso de métodos cromatográficos que permitan identificar y cuantificar las moléculas obtenidas en dichos extractos (Ardila *et al.*, 2009).

2.4.2.3 Orégano

Raybaudi *et al.*, (2006) señala que el uso de aditivos alimentarios de origen natural implica el aislamiento, purificación, estabilización e incorporación de dichos compuestos con fines antimicrobianos a los alimentos sin que ello afecte negativamente a las características sensoriales, nutritivas y a su garantía sanitaria. Esto tiene que lograrse manteniendo los costes de formulación, procesado o comercialización.

Los estudios “in vitro” realizados con aceites esenciales han demostrado que la actividad antimicrobiana está influida por el medio de cultivo, la temperatura de incubación y el tamaño del inóculo utilizado (Nychas *et al.*, 2003). Así mismo las características de los microorganismos son también importantes sobre la efectividad de los aceites esenciales.

El efecto antioxidante de las plantas aromáticas se debe a la presencia de grupos hidroxilo en los compuestos fenólicos. Entre las diferentes variedades de orégano se han encontrado altos niveles de antioxidantes (>140 mmol/100 g) (Dragland *et al.*, 2003). El potencial antioxidante de los extractos de orégano ha sido determinado por su capacidad

para inhibir la peroxidación lipídica, protegiendo al ADN del daño por radicales hidroxilo, con los métodos de atrapamiento de peróxido de hidrógeno, atrapamiento de HOCl y por la prueba de la rancidez. En todas estas pruebas, los extractos de orégano han mostrado ser efectivos, en algunos casos a niveles superiores a los exhibidos por el propil galato, BHT y BHA (Martínez *et al.*, 2001). Sin embargo, sus aplicaciones industriales son limitadas debido al aroma y sabor que pueden conferir a los alimentos, por lo que se requiere de investigación en procesos de deodorización (Moure *et al.*, 2001). La actividad antioxidante depende del tipo y polaridad del solvente extractante; por ejemplo, los antioxidantes obtenidos con agentes lipofílicos son más efectivos en emulsiones (Moure *et al.*, 2001). El aceite esencial de *O. vulgare* tiene actividad anti-radical y esta propiedad se le atribuye a los monofenoles carvacrol y timol (Deighton *et al.*, 1993). Varios investigadores confirman el potencial antioxidante de extractos y aceites esenciales de diferentes variedades de orégano (*O. vulgare*, *O. compactum*, *O. majorana*)

Existen múltiples estudios sobre la actividad antimicrobiana de los extractos de diferentes tipos de orégano. Se ha encontrado que los aceites esenciales de las especies del género *Origanum* presentan actividad contra bacterias gram negativas como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica* y *Enterobacter cloacae*; y las gram positivas como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus subtilis* (Aligiannis *et al.*, 2001; Elgayyar *et al.*, 2001). Tienen además capacidad antifúngica contra *Cándida albicans*, *C. tropicalis*, *Torulopsis glabrata*, *Aspergillus Níger*, *Geotrichum* y *Rhodotorula*; pero no contra *Pseudomona aeruginosa* (Sivropoulou *et al.*, 1996). Se ha evaluado la actividad antimicrobiana de los componentes aislados, así como el del aceite esencial. Los fenoles carvacrol y timol poseen los niveles más altos de actividad contra microorganismos gram negativos, excepto para *P. aeruginosa*, siendo el timol más activo. Otros compuestos, como el γ -terpineno y ρ -cimeno no mostraron actividad contra las bacterias estudiadas. Los valores de la concentración

mínima inhibitoria (CMI) para los aceites esenciales se han establecido entre 0.28-1.27 mg/ml para bacterias, y de 0.65-1.27 mg/ml para hongos (Aligiannis *et al.*, 2001).

Asemejando el uso que se le ha dado a la canela se utilizó en investigaciones el orégano como antioxidante en alimentos cárnicos como salami y como conservador. Se mostró que los aceites esenciales de orégano aplicado al salami posee una importante actividad antioxidante (Cardona *et al.*, 2009).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo de investigación se realizó en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro específicamente en el laboratorio de lácteos del departamento de Producción Animal, en el laboratorio de producción animal y en el laboratorio de principios de nutrición ambos del departamento de Nutrición.

3.1 Caracterización físico-química del suero.

3.1.1 pH

Como primer paso se determinó el pH del suero dulce que tenía un día de reposo, con un potenciómetro (HANNA pH 209) el cual se calibró según la norma oficial.

3.1.2 Acidez

En seguida se procedió a conocer la acidez o contenido de ácido láctico del mismo utilizando la fórmula de acidez titulable:

$$\% \text{ de Acidez titulable} = \frac{(ml.NaOH0.1)(0.009)(100)}{gr.muestra.}$$

Donde:

NaOH se empleó a una concentración de 0.1 N

0.009 es el factor de conversión

g= gramos de la muestra

3.1.3 Densidad

Posteriormente a esto se determinó la densidad que poseía el suero; en una probeta de 250ml se agregó el suero hasta cubrir los mililitros máximos en la misma y con un potenciómetro se midieron los grados Quevenne que contenía el suero, además con un termómetro se tomó la temperatura del suero en °C, y para conocer la densidad, tomando en cuenta que la lectura fue menor de 15°C, se restó a la lectura 0.0002 por cada grado centígrado que disminuyó la temperatura-

3.2 Análisis de minerales en el suero

Únicamente se analizó el contenido de Ca, P y K del suero.

3.2.1 Análisis de calcio (Ca) y potasio (K)

Se pesó 1g de muestra y se colocó en un vaso de precipitados de 100ml, se agregó una mezcla de ácido nítrico y perclórico 3:1 (v/v), esto se hizo por triplicado. Para cubrir cada vaso se le colocó a cada uno un vidrio de reloj, después sometieron las muestras a digerir en una parrilla de calentamiento.

Las muestras estuvieron en la parrilla hasta que la mezcla cambió de color en cada vaso, de un café oscuro a un verde claro cristalino prácticamente

transparente, esto fue evidencia de que la muestra ya se había digerido completamente.

Se colocó en un embudo un papel filtro no. 42 sin cenizas, se diluyó la muestra con agua desionizada para filtrar. Se recibió el filtrado en un matraz de aforación de 100ml.

Inmediatamente con un espectrofotómetro de absorción atómica (VARIAN AA 1275), previamente calibrado según la norma oficial, se leyó el contenido de Ca y K en cada una de las muestras.

3.2.2 Análisis de fósforo (P)

Se llevó a cabo por el método de ANSA (ácido amino naftol sulfónico). En un vaso de precipitados agregamos 1ml de extracto de minerales, 5ml de molibdato de amonio y 2ml de ANSA, todo esto se mezcló y reposó durante 20 minutos. Este procedimiento se hizo por triplicado.

Después utilizando un espectrofotómetro (Genesys 5) se leyeron cada una de las alícuotas tomadas de las soluciones que se prepararon. El espectrofotómetro fue ajustado a 640nm para tomar las lecturas.

3.3 Análisis bromatológico del suero.

Al suero se le realizó un análisis bromatológico para establecer su composición química.

Previo al análisis el suero fue secado en una estufa de secado a 45°C durante 24 horas, se colocaron 40 cajas Petri dentro de la estufa que contenían el suero, una vez seco se separó de las cajas y se molió en un mortero.

Para cada una de las evaluaciones, proteína cruda, cenizas y grasas se tomaron 3 muestras del suero seco que se obtuvo, o sea que cada uno de los análisis se hizo por triplicado.

3.3.1 Determinación de proteína

Se tomó un gramo de muestra que fue colocado en el matraz Kjeldahl, se agregó una cucharada de muestra de selenio (catalizador), se agregaron 6 perlas de vidrio además de 30ml de ácido sulfúrico concentrado.

El matraz se colocó en el digestor Kjeldahl, se encendió la parrilla igualmente el motor aspirador de gases y esto estuvo expuesto al calor hasta que la muestra cambió de color café oscuro a verde claro. En seguida se dejó enfriar el matraz a temperatura ambiente y una vez frío se agregaron 300ml de agua destilada.

En el matraz Erlenmeyer se agregaron 50ml de ácido bórico, 6 gotas de indicador mixto y se colocó la manguera del destilador Kjeldahl dentro del matraz.

Una vez hecho esto el matraz Kjeldahl se agitó para disolver la muestra, después se agregaron lentamente por las paredes del matraz 110ml de hidróxido de sodio al 45%, se añadieron 6 granallas de zinc, se volvió a colocar en el aparato de destilación Kjeldahl en la parte de arriba, la parrilla se encendió y se

recibieron 300ml en el matraz Erlenmeyer; una vez obtenido el volumen antes mencionado se retiró primero el matraz Erlenmeyer y se apagó la parrilla, esto evito que la muestra se succionara y regresara al matraz Kjeldahl.

Un blanco se corrió sin muestra con el procedimiento antes mencionado y una vez terminado todo este procedimiento se titularon las muestras, que fueron 3 más el blanco, con ácido sulfúrico.

Finalmente se despejaron las siguientes fórmulas:

$$\% N = \frac{\left(\begin{matrix} ml.ácido \\ sulfúrico \\ gastado \\ muestra \end{matrix} \right) - \left(\begin{matrix} ml.ácido \\ sulfúrico \\ gastado \\ blanco \end{matrix} \right)}{gramos.muestra} \times 0.014 \times normalidad.ácido \times 100$$

$$\% PC = \% N \times 6.25$$

De los 3 resultados obtenidos se calculó un promedio para tener un solo resultado final.

3.3.2 Determinación de cenizas

Para llevar a cabo el análisis de ceniza se pesaron 3 crisoles individualmente, en seguida se colocó un gramo de muestra en cada crisol; cada crisol fue llevado a la parrilla a baja temperatura y se retiraron hasta que las muestras dejaron de generar humo.

Como siguiente paso los crisoles se introdujeron en la mufla durante 2 horas a una temperatura de 600°C, una vez transcurrido ese tiempo se retiraron los crisoles de la mufla y se colocaron de un desecador durante 15 minutos para enfriar.

Al final se tomaron los pesos de los crisoles con las muestras y se realizaron los siguientes cálculos:

$$\%C = \frac{\text{peso.crisol.con.cenizas} - \text{peso.crisol.solo}}{\text{gramos.muestra}} \times 100$$

También en este análisis de los resultados de las 3 muestras se obtuvo un promedio para tener un solo resultado.

3.3.3 Determinación de grasa

Para obtener el contenido de grasa del suero se utilizó el método de Soxleth.

Se pesaron 5g de muestra seca sobre papel filtro, se depositó en un cartucho poroso de celulosa y se puso en un sifón.

Previo a esto se dejó secar un matraz de fondo plano y boca esmerilada en una estufa de secado durante 24 horas. Una vez que se realizó este paso se dejó enfriar en un desecador durante 15 minutos y se pesó. A este matraz se le se adicionó hexano hasta la mitad.

Se acopló el refrigerante del dispositivo soleta. Durante un periodo de 10 horas, que se empezó a contar a partir de que llegara a ebullición el contenido del matraz, se extrajo la grasa de la muestra.

Al finalizar la extracción se evaporó el solvente en una rota vapor. Nuevamente se puso a peso constante el matraz bola fondo plano en la estufa a una temperatura de 100-103°C por un espacio de 12 horas. Transcurrido el tiempo se sacó de la estufa, se enfrió y se pesó y finalmente se llevaron a cabo los siguientes cálculos:

$$\%Grasa = \frac{\text{peso.matraz.con.grasa} - \text{peso.matraz.solo}}{\text{gramos.muestra}} \times 100$$

Recordando que de las 3 muestras igual se obtuvo un promedio para el resultado final.

3.4 Cuenta total de microorganismos presentes en suero

Para conocer el número unidades formadoras de colonias (UFC) se llevó a cabo una siembra con el suero líquido que tenía 24 horas de reposo.

3.4.1 Preparación de agar

El agar que se utilizó fue agar nutritivo (BD Bioxon^R). Se pesaron 11.5g de agar para 500ml de agua destilada que se mezclaron en un matraz Erlenmeyer que fue puesto a flama de mechero hasta disolver completamente y tomar un color cristalino. En seguida se esterilizó el medio en una autoclave (PRESTO_{M.R.}) a 121°C y 15Lb de presión durante 15 minutos. Finalmente fue

vaciado en cajas Petri de plástico estériles (S y M Laboratorios) en un medio estéril. Se dejó solidificar a temperatura ambiente, después fue refrigerado para su posterior utilización.

3.4.2 Crecimiento en medio sólido

Se sembró mediante la técnica vertido en placa, el suero fue diluido 10^{-7} y en cada caja se agregaba 0.5ml de suero. Las cajas fueron incubadas a una temperatura 37°C , se utilizó una incubadora (LAB-LINE^R INCUBATOR SHAKER), se monitoreaba su crecimiento cada 24 y 48 horas.

3.5 Empleo de inhibidores de crecimiento en suero de leche

3.5.1 Preparación de caldo nutritivo

Se utilizaron 23 matraces Erlenmeyer de 250ml y en cada matraz se agregaron 100ml de agua destilada y 0.8g del medio (MARCA). Cada matraz fue puesto a flama de mechero hasta disolver completamente y tomar el color cristalino esperado. Los 23 matraces se esterilizaron en una autoclave (PRESTO_{M.R.}) a 121°C y 15Lb de presión durante 15 minutos. Se guardaron a temperatura ambiente para su uso posterior.

3.5.2 Crecimiento en medio líquido

Una vez preparados los 23 matraces con el caldo nutritivo, que poseía un pH de 7, se adicionó a cada matraz un antimicrobiano natural: canela, oligosacáridos de quitosán y cilantro. Las concentraciones en las que se suministró cada antimicrobiano fueron: 0.5%, 1.0% y 1.5%, cada uno con dos

repeticiones. Se tenía un control que sólo era caldo nutritivo, tres matraces a los cuales no se les adicionó suero nada más el caldo y un el inhibidor al 1%, un matraz únicamente contenía caldo nutritivo y 1ml de suero; los otros 12 matraces contenían las concentraciones antes mencionadas (0.5%, 1.0% y 1.5%) de cada antimicrobiano y además 1ml de suero. Se monitoreó la cinética a tiempos de 0, 24, 48, 72, 96 y 120 horas.

Cada una de las alícuotas tomadas (1.5ml) fue leída mediante turbidez empleando un espectrofotómetro (Genesys 5) a 590nm (región visible).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización físico-química del suero

Al realizar cada uno de los análisis concernientes a cada una de las características físico-químicas buscadas se obtuvieron los datos presentados en el cuadro 5 donde podemos observar que estos resultados son similares a los obtenidos por Miranda *et al.*, (2008) en donde afirma que el pH superior del suero de queso dulce se atribuye a que este proviene de una leche sujeta a mayor control de calidad. De igual forma el bajo porcentaje de acidez permite que este suero sea aún más provechoso para los animales. También se obtuvo una densidad baja que se debe a que en la leche se encuentran la mayor cantidad de sólidos.

Cuadro 5. Caracterización físico-química del suero de queso dulce.

| Indicador | Suero de queso dulce |
|------------------------------|----------------------|
| pH | 6.8 |
| Acidez, % | 0.42 |
| Densidad, g.cm ⁻³ | 1.012 |

4.2 Análisis bromatológico del suero

En el cuadro 6 se muestran los resultados obtenidos del análisis bromatológico realizado en el suero:

Cuadro 6. Resultados del análisis bromatológico en el suero de queso dulce.

| INDICADOR | SUERO DE QUESO DULCE (%) |
|------------------|---------------------------------|
| Proteína | 13.39 |
| Cenizas | 14.20 |
| Grasa | 29.30 |

El contenido proteico del suero fue alto lo cual es un factor de ventaja debido a que los animales, por ejemplo los cerdos durante toda su etapa productiva de acuerdo al NRC necesitan un determinado contenido de proteína en la dieta, en pre-iniciación 24%PC (Proteína Cruda), iniciación 20%PC, crecimiento 18%PC, desarrollo 15%PC y finalización 13%PC; esto nos quiere decir que este ingrediente podría sumarse perfectamente a la dieta de los animales con la certeza de que los costos en alimentación disminuirán notablemente y los requerimientos con la ayuda de otros ingredientes serán cubiertos adecuadamente sin provocar mermas en el desarrollo de los porcinos.

La mayoría de los autores no cita el contenido de ceniza de las muestras de suero que ellos han analizado pero cabe recordar que las cenizas se refiere a lo que queda de la combustión total de un alimento, que las cenizas están formadas por diversas sustancias minerales en forma de óxidos, sulfatos, fosfatos, cloruros y silicatos (Aviles., 2010), necesarios para cubrir los requerimientos de minerales de cualquier especie. Nuestra muestra contuvo un alto porcentaje de cenizas connotando así aún más la utilización del suero.

4.3 Contenido de Ca, P y K en el suero

En los animales el Ca y P juegan un papel muy importante, ambos elementos son componentes del esqueleto óseo. El calcio participa en la excitabilidad nerviosa y muscular; también es necesario para la coagulación normal de la sangre.

El fósforo por su parte es un componente de los fosfolípidos de importancia en el transporte y metabolismo de los lípidos y en la estructura de las membranas celulares; es decir, que el fósforo está presente prácticamente en todas las células, también interviene en el metabolismo de la energía y además forma parte de varios sistemas enzimáticos.

El cuadro 7 muestra el contenido de los minerales Ca, P y K presentes en el suero de leche.

Cuadro 7. Contenido de minerales en el suero de queso dulce.

| No. de Muestra | Ca | P | K |
|-----------------|--------------|--------------|--------------|
| 1 | 0.67% | 1.45% | 1.83% |
| 2 | 0.62% | 1.74% | 1.83% |
| 3 | 0.59% | 1.31% | 1.86% |
| Promedio | 0.63% | 1.50% | 1.84% |

De acuerdo al contenido de minerales que obtuvimos de la muestra de suero podemos considerar que está dentro del rango de lo permisible, si lo comparamos con un ingrediente como el maíz, que es utilizado en la mayoría de las dietas de las diferentes especies zootécnicas, que contiene 0.06% de Ca, 0.24% de P y 0.46% de K de acuerdo al NRC; podemos decir entonces que en

comparación del maíz grano y el suero, es mejor el suero en el contenido de minerales.

En los análisis hechos a otros sueros no se menciona el contenido de K que se encuentra en este, sin embargo también debe considerarse porque además de que es un macro-nutriente participa en la asimilación de principios nutritivos, lleva a cabo funciones orgánicas de suma importancia como son las relaciones osmóticas, ya que está involucrado en el balance de electrolitos en el equilibrio ácido-base y en la digestión. También participa en la determinación de la calidad de la piel, en la pigmentación y en la actividad del sistema nervioso de los animales (Torres., s/f).

4.4 Cuenta total de microorganismos presentes en suero de leche dulce

El cuadro 8 presenta el monitoreo de la cuenta total de microorganismos mediante la técnica de diluciones, donde se puede observar que la cantidad de microorganismos en las primeras diluciones es mayor a la permitida por la norma oficial mexicana NOM-110-SSA1-1994 “vertido en placa”; sin embargo, el contenido total de bacterias presentes en el suero de leche fue de 1, 170,000 ,000 UFC/ml.

Cuadro 8. Crecimiento de UFC con monitoreo diario.

| Día \ Dilución | Dilución | | | | | | |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 10^{-3} | 10^{-4} | 10^{-5} | 10^{-6} | 10^{-7} | 10^{-7} | 10^{-7} |
| 1 | <300 | | | | | | |
| 2 | | <300 | | | | | |
| 3 | | | <300 | | | | |
| 4 | | | | <300 | | | |
| 5 | | | | | 73 | | |
| 6 | | | | | | 115 | |
| 7 | | | | | | | 163 |

Posteriormente se monitoreó el crecimiento microbiano cada 3 días obteniendo los datos presentados en el cuadro 9.

Cuadro 9. Crecimiento de UFC con monitoreo cada tercer día a temperatura ambiente.

| Día \ Dilución | Dilución | | |
|----------------|-----------|-----------|-----------|
| | 10^{-3} | 10^{-5} | 10^{-7} |
| 1 | <300 | | |
| 3 | | <300 | |
| 6 | | | 68 |

4.5 Empleo de inhibidores de crecimiento en suero de leche

Las bacterias enfrentan constantes condiciones que limitan o impiden su crecimiento. La habilidad para colonizar un ambiente requiere de la capacidad del microorganismo para alternar periodos de rápida división celular y de crecimiento nulo. La curva normal de crecimiento bacteriano presenta 4 fases: 1) fase de transición o “lag”, 2) fase logarítmica o exponencial, 3) fase de transición o estacionaria y 4) muerte celular (Pérez., 2009).

Se realizó con cada uno de los antimicrobianos naturales (canela, OQ y cilantro) una cinética para conocer el crecimiento diario de las bacterias en el suero. Los resultados que muestra la figura 1 indican el poder inhibitorio de la canela sobre los microorganismos presentes en suero dulce de leche.

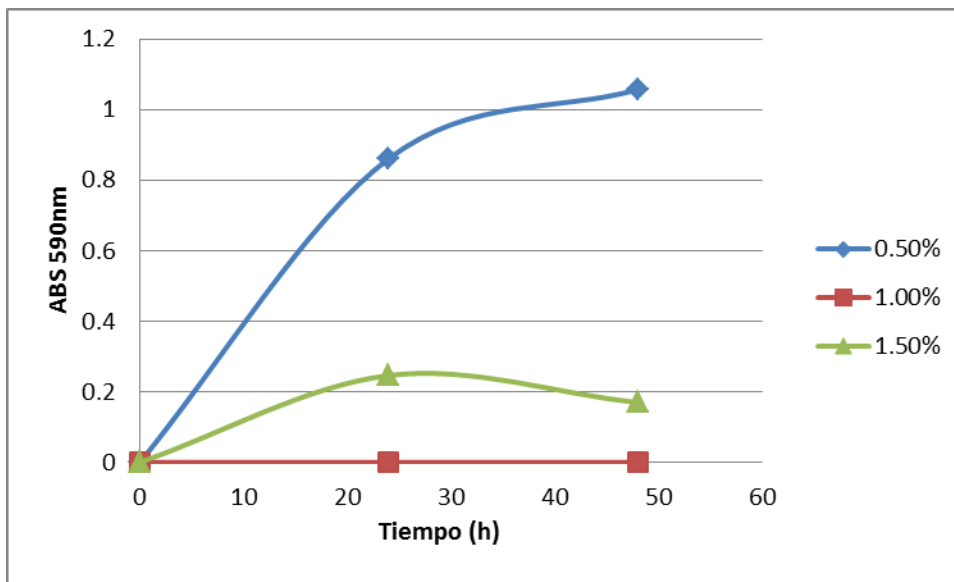


Figura 1. Curva de inhibición de bacterias en caldo nutritivo más suero de queso dulce con canela a diferentes concentraciones.

En este caso podemos decir que la concentración óptima para inhibir el crecimiento de las bacterias presentes en suero dulce con mayor eficacia se observó a una concentración de 1%, ya que a esta concentración los microorganismos ni si quiera pasan a la fase lag que es en dónde se adaptan al medio antes de iniciar su crecimiento; no así al 0.5% en donde observamos que a partir de las primeras horas los microorganismos se adaptan rápidamente al medio y su crecimiento es ascendente hasta las 48 horas (fase exponencial); cuando la concentración fue al 1.5% las bacterias crecieron hasta las 24 horas (fase lag) pero después de este tiempo los microorganismos entraron a la fase de muerte celular. Lo anterior se confirma con las velocidades de crecimiento que se obtuvieron y se muestran en el cuadro 10 donde μ a la concentración 0.5% fue de 0.022 a la concentración de 1% fue de 0 y a la concentración 1.5% 0.0035DO/h.

García *et al* (2006) en su estudio con aceite de canela demostró que es un excelente antifúngico capaz de inhibir el crecimiento de colonias de *Aspergillus flavus*. Existen trabajos en donde se ha encontrado que la canela además de presentar un efecto antifúngico inhibe la producción de aflatoxinas (Bullerman., 1974; Bullerman *et al.*, 1977; Chalfoun *et al.*, 2004; Hitoko *et al.*, 1979; Mabrouk., 1980; Sinha *et al.*, 1993). En comparación con nuestros resultados podemos aseverar que al igual que los resultados que se han obtenido en otros trabajos con canela, es un buen antifúngico cuando se maneja en las concentraciones adecuadas.

En la figura 2 el comportamiento de los microorganismos, con cilantro como inhibidor, al 0.5% el crecimiento ocurre más lentamente que en las demás concentraciones ya que de las 0-20 horas se encuentran en la fase de adaptación

al medio y es a partir de las 22 horas en donde comienza su crecimiento ascendente manteniéndose así hasta las 48 horas (fase exponencial), lo que indica que el empleo de cilantro a dicha concentración tiene un efecto bacteriostático retardando el crecimiento de los microorganismos hasta por 24 h. El desarrollo de los microorganismos con el inhibidor al 1% fue rápido pues muy fácilmente se adaptaron al medio y su crecimiento fue aumentando de las 0 a las 48 horas. En la concentración 1.5% fue donde más desarrollo tuvieron las bacterias pues de las 24-48 horas su crecimiento exponencial se mantuvo en un aumento, lo cual fue muy notorio; igualmente podemos observar los resultados obtenidos al encontrar la velocidad de crecimiento de cada concentración en el cuadro 10, que es inversamente proporcional o sea que a mayor concentración de cilantro adicionada al suero mayor es el crecimiento de las bacterias debido a que los resultados de μ fueron de 0.006 DO/h cuando la concentración fue al 0.5% DO/h, 0.0176 al 1% y 0.027 DO/h al 1.5%.

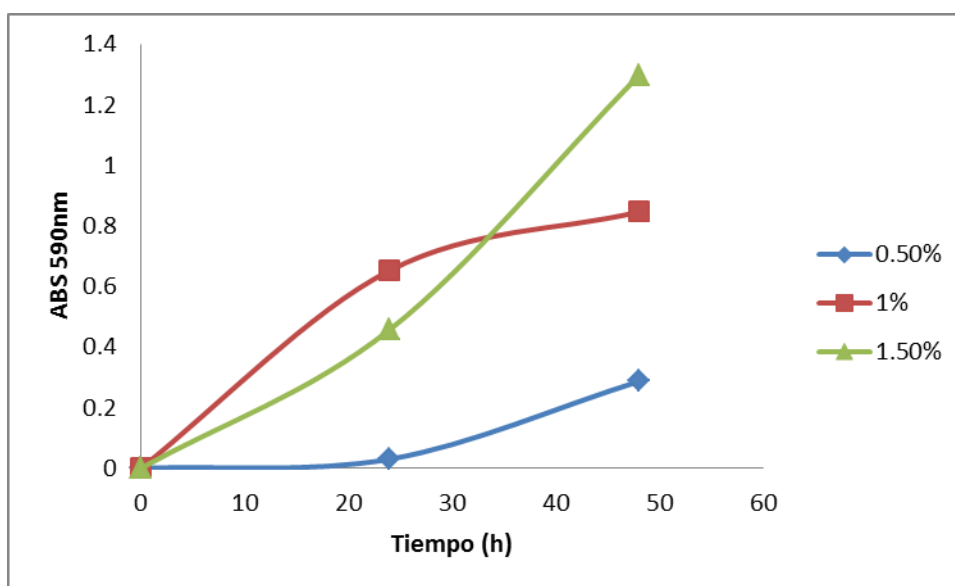


Figura 2. Curva de inhibición de bacterias lácticas en caldo nutritivo más suero de queso dulce con cilantro a diferentes concentraciones.

Al igual que con la canela se han hecho trabajos con el cilantro para conocer la capacidad antimicrobiana que posee y los resultados han sido satisfactorios mostrando que tiene actividad antimicrobiana frente a diferentes géneros de bacterias Gram positivas (*Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*) y Gram negativas; el efecto de esta planta se ha buscado tanto en las hojas como en las semillas y en los tallos de los mismos. Un estudio reciente encontró concentraciones inhibitorias mínimas de esta planta demostrando un porcentaje de inhibición del 71% frente a la vancomicina (Ardila *et al.*, 2009). A pesar de que en este trabajo no se extrajo el aceite resultante del cilantro se trabajó con las hojas y el tallo de éste y comprobamos al igual que otros estudios que el cilantro sí posee una actividad bacteriostática.

Finalmente el inhibidor OQ también se probó a las mismas concentraciones, su comportamiento se muestra en la figura 3, en donde las bacterias tuvieron un desarrollo totalmente proporcional pues a mayor concentración los microorganismos fueron decreciendo de manera considerable y se afirmó que la concentración 1.5% fue la óptima en este caso, pues a pesar de que no presentaron fase de adaptación y su crecimiento en la fase exponencial, que fue de las 0-24 horas, ocurrió en forma ascendente, inmediatamente después llegaron a la fase de muerte celular manteniéndose en decrecimiento hasta las 96 horas.

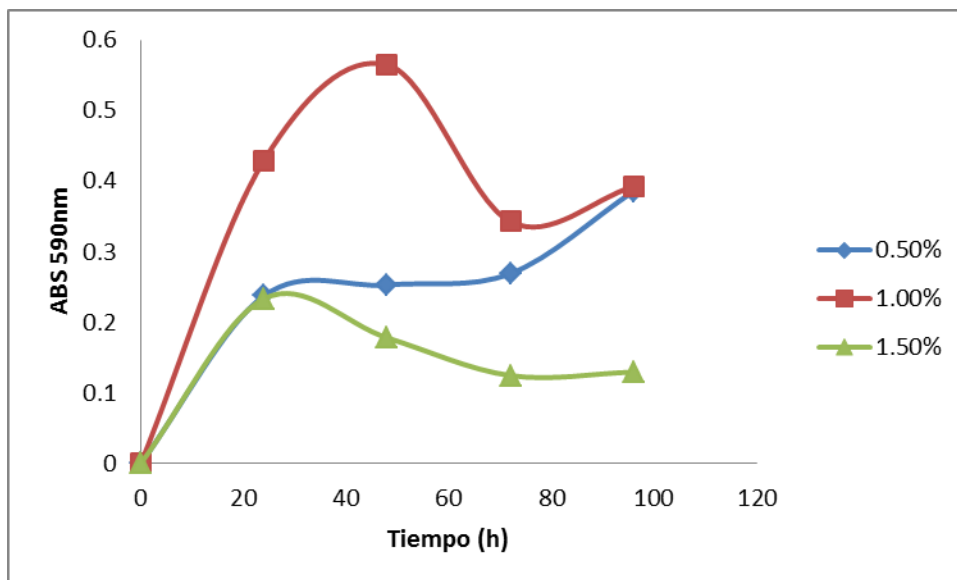


Figura 3. Curva de inhibición de bacterias en caldo nutritivo más suero de queso dulce con oligosacáridos de quitosán a diferentes concentraciones.

Sin embargo en las concentraciones 0.5 y 1% ocurre un periodo de adaptación de las 24-72 horas y de las 72-76 horas respectivamente, mostrando un crecimiento que se mantuvo ascendente hasta las 96 horas.

Diferentes autores como Paredes *et al* (s/f), Plascencia *et al* (s/f) y Rodríguez *et al* (2010) han concluido que el mejor efecto inhibitorio del quitosán se presentó cuando éste poseía más alto peso molecular, que puede prevenir el crecimiento de hongos sobre la superficie de alimentos, ofreciendo una alternativa potencial al uso de materiales sintéticos, además de ser biodegradables y que las películas de quitosán resultan eficaces en la inhibición de bacterias gram positivas y gram negativas. Corroborando así nuestros resultados debido a que también probamos que a mayor concentración del quitosán en el suero más lento fue el crecimiento de las bacterias dando μ 0.0099DO/h al 1.5%.

El cuadro 10 presenta las velocidades de crecimiento de las bacterias lácticas.

Cuadro10. Velocidad de crecimiento de las bacterias a diferentes concentraciones con inhibidores de crecimiento distintos.

| Inhibidor | Concentración (%) | μ DO/h |
|------------------|--------------------------|------------------------------|
| Canela | 0.5 | 0.022 |
| | 1.0 | 0 |
| | 1.5 | 0.0035 |
| Cilantro | 0.5 | 0.006 |
| | 1.0 | 0.0176 |
| | 1.5 | 0.027 |
| OQ | 0.5 | 0.0099 |
| | 1.0 | 0.00118 |
| | 1.5 | 0.0099 |

En el cuadro anterior podemos observar que el OQ presentó una velocidad de crecimiento más lento en todas sus concentraciones con respecto a los otros inhibidores; no así la canela y el cilantro que en las diferentes concentraciones mostraron comportamientos muy variables.

5. CONCLUSIONES

- Al realizar el análisis físico-químico y bromatológico del suero pudimos constatar que es un derivado de la leche potencial, que podemos utilizarlo en la dieta de los animales mezclado con otros ingredientes y lograr cubrir los requerimientos nutricionales de los mismos.
- El crecimiento de los microorganismos bacterianos en la leche aumentó en grandes proporciones diariamente, lo cual comprobó que para su uso cotidiano es necesario añadir algún antimicrobiano natural.
- La presente investigación arrojó que adicionando un inhibidor de crecimiento de bacterias, como la canela, el cilantro o los oligosacáridos de quitosán, en el suero de leche, se prolonga la vida de anaquel del mismo.
- Se demostró que la canela, el cilantro y OQ a concentraciones de 0.5 y 1.5 tienen un efecto bacteriostático sobre los microorganismos presentes.

6. RECOMENDACIONES

Se sugiere que se analice, además de los antimicrobianos con los que se trabajaron en esta tesis, al orégano ya que al igual que la canela, el cilantro y los oligosacáridos de quitosán éste también es un inhibidor natural de gran relevancia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Aligiannis**, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S., Chinou, I.B. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *J. Agric. Food Chem.* 2001; 49: 4168-4170.
2. **Andrews**, J.H., Harris, R.F. The ecology and bioecography of microorganisms on plant surfaces. *Annu Rev Phytopathol* 200; 38: 145-180.
3. **Anónimo**. Agentes antimicrobianos. Consultado en: http://www.catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lia/.../capitulo4.pdf. En Enero 31, 2011.
4. **Aranaz**, I., *et al.* 2009. Functional characterization of chitin and chitosan. *Current chemical biology*. Vol. 3, No. 2. Págs. 203-230.
5. **Ardila**, Q.M.I; Vargas, A.A.F; Pérez, C.J.E.; Mejía, G.L.F. Ensayo preliminar de la actividad antibacteriana de extractos de *Allium sativum*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia Caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* Y *Thymus vulgaris* frente a *Clostridium perfringens*. Consultado en: <http://biosalud.ucaldas.edu.co/index.php?option=content&task=view&id=32>. En Febrero 9, 2011.
6. **Avendaño**, A.A., 2010. Estudio bactericida de películas comestible de oligosacáridos de quitosán aplicadas sobre carne de res. Tesis. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, p.p. 108.
7. **Barrientos**, G.B.A. Efecto del suero de queso líquido y condensado (ricota) combinado. Consultado en: <http://www.cybertesis.uach.cl/tesis/uach/1997/fvb275e/doc/fvb275e.pdf>. En Diciembre 4, 2010.
8. **Bauza**, R. Alimentos alternativos para animales monogástricos. Consultado en: <http://www.gidesporc.com.ar/Memorias%20del%20Encuentro.pdf#page=47>. En Septiembre 26, 2010.

9. **Bauza, R.,** González, A., Panissa, G., Petrocelli, H., Miller, V. Evaluación de dietas para cerdos en recría incluyendo forraje y suero de queso. Consultado en: http://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:qqZeW7u_-pcJ:www.aapa.org.ar/congresos/2003/NaPdf/Na2.PDF+Bauza+suero+de+queso+2003&hl=es&gl=mx&pid=bl&srcid=ADGEEShfe1uZxI87KzjdaLTXIPMlq1ZwMMJ29quTlzf-K1YUFjDs3X4E-hwweD3fcfLAdNl4Bxp6JjMsduffDAgyxUYuW3cSpxFpQ-w4xpRmm0HfdTp7648_xLKFqLxkbQAAXwsuKfaa&sig=AHIEtbRh_UIzAezpxRSiXzNvFTtaTqjOgw. En Febrero 11, 2011.
10. **Bullerman, L.B.** 1974. Inhibition of aflatoxin production by cinnamon. *Journal of food science* 39: 1163-1165.
11. **Burdock, G.A;** Garabin, I.G. Safety of Coriander (*Coriandrum sativum L.*) essential oil as food ingredient. *Food and Chemical Toxicology* 2009;47:22-34.
12. **Chalfoun, S.M.,** Pereira, M.C., Resende, M.L., Lima-Angelico, C., and Da Silva, R.A. 2004. Effect of powdered spice treatments on mycelial growth, sporulation and production of aflatoxins by toxigenic fungi. *Ciencia Agrotecnología* 28: 856-862.
13. **Davison, P.M.** 2001. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. En: *Food Microbiology: and Fundamentals and frontiers*, 2 Ed. Doyle MP, LR Beuchat, TJ Montville (Eds). ASM Press Washington, D,C., USA. Chap. 29: 593-627.
14. **Deighton, N;** Gridewell, S.M; Deans S.J; Groodman, B.A. Identification by EPR spectroscopy of Carvacrol and Thymol as the major sources of free radicals in the oxidation of plant essential oils. *J. Sci. Food Agric.* 1993; 63: 221-225.
15. **Delaquis, P.J;** Stanich, K; Girard, B; Mazza, G. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology* 2002;74:101-109.33. Shan, B; Zhong C, Y; Brooks
16. **Dixon, R.A.** Natural products and plant disease resistance. *Nature* 2001. 411: 843-847.

17. **Dragland**, S; Senoo, H; Wake, K; Holte, K. Blomhoff R. Several culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxidants. *Am Soc Nutr Sci.* 2003; 133(5): 1286-1290.
18. **Elgayyar**, M; Draughon, F; Golden D.A; Mount J.R. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *J. Food Protect.* 2001; 64 (7): 1019-1024.
19. **Engler**, V. Reciclando los desechos de la leche. Consultado en: http://www.fcen.uba.ar/prensa/noticias/2003/noticias_12ago_2003.html. En Enero 15, 2011.
20. **García**, C.E.A., Quezada, V.M.Y., Moreno, L.J., Sánchez, H.G., Moreno, M.E., Pérez, R.M.C.J. Actividad antifúngica de aceites esenciales de canela y orégano y su efecto sobre la producción de aflatoxinas en nuez pecanera. Consultado en: <http://www.redalyc.uaemex.mx/pdf/612/61224102.pdf>. En Marzo 20, 2011.
21. **Gende**, L.B.; Fuselli, S.R.; Fritz, R.; Eguaras, M.J. Inhibición del crecimiento de *Paenibacillus larvae* subsp. *Larvae* frente al aceite esencial de canela (*Cinnamomum Zeylanicum*) y sus componentes. Consultado en: http://www.culturaapicola.com.ar/.../205_loque_americana_esencia_canela.pdf. En Marzo 16, 2011.
22. **Hancock**, J. 1995. Use of specially processed soy products to replace milk protein in body pig starter diets. In: *memory the lance*, Atenas (Costa Rica). Consultado en: <http://www.cipav.org.co/RevCubana/fullart/1101/110106.doc>. En Enero 15, 2011.
23. **Hirano**, S. y Nagao, N. 1989. Effect of chitosan, pectic acid, lysosyme and chitinase on the
24. growth of several phytopathogens. *Agric. Biol. Chem.* 53: 3065-3066.
25. **Le Dividich**, J. 1998. In: *Proceedings of the 15th IPVS Congress*, p 299–308.
26. **Mabrouk**, S.S., and El-Shayeb, N.M. Inhibition of aflatoxin formation by some spices. *Zeitschrift fur Lebensmittelchemie Unters Forschungsanstalt* 171: 344.347.
27. **Mahan**, D.C. y Newton, E.A. 1993. Effect of added carbohydrate sources at various levels in combination with feed grains and milk products on weaning pig performance. *Ohio Swine Research and Industry Report.* (1992-1993). Ohio State University. p 39-44

- 28. Martínez-Tomé M;** Jiménez A.M; Ruggieri, S; Frega, N; Strabbioli, R; Murcia M.A. Antioxidant properties of Mediterranean spices compared with common food additives. *J. Food Protect.* 2001; 64 (9): 1412-1419.
- 29. Matasyoh, J.C;** Maiyo, Z.C.; Ngure, R.M; Chepkorir, R. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Coriandrum sativum*. *Food Chemistry* 2009;113:526-529.
- 30. Miranda, M.O.,** Ponce, P.I., Fonseca, P.L.P., Cutiño, E.M., Díaz, L.R.M., Cedeño, A.C. Características físico-químicas de sueros de queso dulce y ácido producidos en el combinado de quesos de Bayamo. Consultado en: http://www.revicubalimentanut.sld.cu/Vol.../Articulo_1_19_1_21_25.pdf. En Octubre 3, 2010.
- 31. Moure, A;** Cruz, J.M; Franco, D; Dominguez, J.M; Sineiro, J; Domínguez, H; Núñez, M.J and Parajó J C. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem.* 2001; 72(2): 145-171.
- 32. Nychas GJE,** PN Skandamis, CC Tassou. 2003. Antimicrobials from herbs and spices. En: *Natural Antimicrobials for the Minimal Processing of Foods.* Roller S. (Ed.). CRC Press. Washington, D.C. Chap. 9: 177-199.
- 33. Paredes, A.M.C.,** Argüelles, M.W.M., Gastélum, F.M.G., Silva, V.R., Nevárez, M.G.V. Efecto antimicrobiano de quitosano en base a las concentraciones mínimas inhibitorias y bactericidas en cinco especies de *Vibrio*. Consultado en: http://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:k9L3rPD276YJ:www.smbb.com.mx/congresos%2520smbb/merida05/TRABAJOS/AREA_III/CIII-48.pdf+Efecto+antimicrobiano+del+quitosano+en+base+a+las+concentraciones+m%C3%ADnimas+inhibitorias+y+bactericidas+en+cinco+especies+de+Vibrio&hl=es&gl=mx&pid=bl&srcid=ADGEESgpvtdf6-nbTGiodwLWXfU1yxrP3pvnV19Ma9l2L6d_Enl2CL50ah_dRgMutugduvarVDqgkajZjIwAgoYcc5fRKyIYexMvcHtmqS04kniVlBodhY1wvjv8BasL41QPhVHjC_L&sig=AHIEtbRa8ccdgdLWiaVTSfwtjnkzdzqbl_A. En Marzo 20, 2011.
- 34. Pérez, D.A.L.A.,** 2009. Estudio del efecto bactericida y/o bacteriostático de oligosacáridos de quitosán sobre *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Tesis. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, p.p. 60.

- 35. Plascencia, J.M.,** Hernández, A., Olayo, R., Viniegra, G., Castillo, O.M.M., Shirai, K. Elaboración y caracterización de películas de quitosano: evaluación del efecto antimicrobiano sobre el crecimiento de *Aspergillus niger*. Consultado en: <http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/.../AREA.../OVI-10.pdf>. En Marzo 12, 2011.
- 36. Pokniak, J.,** Cornejo, S., Bonacic, M. Suero fresco de quesería en raciones para cerdos en engorda. Consultado en: <http://www.inia.cl/medios/biblioteca/agritec/NR14914.pdf> En Octubre 10, 2010.
- 37. Raybaudi, M.R.M;** Soliva, F.R; Martín, B.O. Uso de agentes antimicrobianos para la conservación de frutas frescas y frescas cortadas. Consultado en: http://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:9ngPrzPNln4J:www.ciad.mx/dtaov/XI_22CYTED/images/files_pdf/brasil/olga.pdf+Uso+de+agentes+antimicrobianos+para+la+conservaci%C3%B3n+de+frutas+frescas+y+frescas+cortadas&hl=es&gl=mx&pid=bl&srcid=ADGEESg96ayJB--a2BWljGIssmIM0TppzMeDHxHhv-vmID-zumJoEId4sU-XTBrC2TesZpb-eYACT1ihnSKU95Z231IhIKMQe-BpmT44OUPKRJNraNerChcRiH7eZEI1545OSncWG_5&sig=AHIEtbTp6-j217kXHBILCIzArmHmqQGpQA . En Febrero 25, 2011
- 38. Rodríguez, N.J.R.,** López, C.J., Sánchez, M.D.I., Soto, V.H., Sánchez, S.A.T., Sendón, R., Angulo, I. Capacidad antimicrobiana de las películas de quitosano. Consultado en: <http://www.congresodelnoroeste.uson.mx/memoriasdelcongreso/BT/BT-19.pdf>. En Marzo 12, 2011.
- 39. Schaller, A.** Sueros de lechería. Consultado en: http://www.alimentosargentinos.gov.ar/.../Lacteos_sueros_lecheria.html. En Noviembre 23, 2010.
- 40. Shahidi, F.;** Kamil, J.; Arachchi, V.; Jeon, Y.J. 1999. Food applications of chitin and chitosans. Food Science and Technology. 10: 37-51.
- 41. Sinha, K.K.,** Sinha, A.K., and Prasad, G. 1993. The effect of clove and cinnamon oils on growth of and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. Letters in Applied Microbiology 16: 114-117.

- 42. Thacker, P. A.** 1999. Nutritional requirements of early weaned pigs: a review. Asian–Australian Journal of Animal Science, 12:976–987.
- 43. Valencia, J.** El suero de quesería y sus posibles aplicaciones. Consultado en: <http://www>. En Enero 7, 2011.
- 44. Zekaria, D.** Los aceites esenciales una alternativa a los antimicrobianos. Consultado en: http://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:kb6f0YID1roJ:www.calier.es/pdf/Microsoft_Word_-_Aceites_esen_como_promotores.pdf+Los+aceites+esenciales+una+alternativa+a+los+antimicrobianos&hl=es&gl=mx&pid=bl&srcid=ADGEEShpZbeIFhuK9M4rtFOtuszlFE0CihtAmpoX1ZWwcPy9ymwaMiXBXPknBc9tnk2xhC1stUDAsJtEObvP8sgP_hZKdTn1sHPQlB5JDIXZ8gW8seF1EL-R89q8d4j95G4RIRhHBxUM&sig=AHIEtbRrICdUgtlqaBLGNKrrxbTkPrSV6A. En Marzo 15, 2011.