

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería



Uso de probióticos en la reducción de la carga de *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli* en queso fresco artesanal

Trabajo de graduación presentado por Cristal Valerie Soberanis Ortiz para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería en Ciencias de los Alimentos

Guatemala,
2025

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería

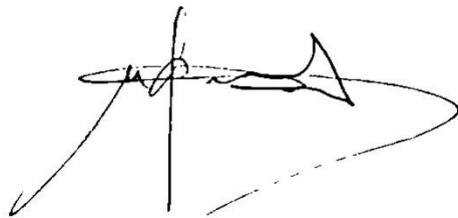


Uso de probióticos en la reducción de la carga de *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli* en queso fresco artesanal

Trabajo de graduación presentado por Cristal Valerie Soberanis Ortiz para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería en Ciencias de los Alimentos

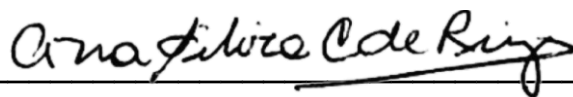
Guatemala,
2025

V.ºB.º



MSc. Víctor Hugo Jiménez Pérez
Asesor

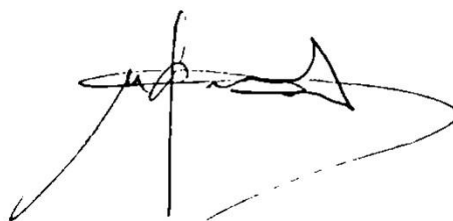
Tribunal examinador:



MSc. Ana Silvia Colmenares Ruiz
Examinador



MSc. Ana Alicia Paz
Examinador



MSc. Víctor Hugo Jiménez Pérez

Fecha de aprobación del examen de graduación: noviembre 17, 2025

Prefacio

Primero, quiero agradecerle a Dios, por las oportunidades brindadas, las amistades que me brindaron a lo largo de este camino y por la familia, especialmente a mi abuelita y madre.

A mi familia, por su apoyo, paciencia y perseverancia durante este viaje que fue tan largo y complicado, en el que siempre estuvieron presentes y trataron de apoyarme aun en los momentos más difíciles.

Agradezco a la Universidad del Valle de Guatemala por el apoyo que me brindó durante todo este tiempo, especialmente a los profesionales del Departamento de Alimentos:

- MSc. Ana Silvia Colmenares, por sus ánimos, cariño, confianza y apoyo a lo largo de la carrera. Siempre creeré que no estaría en el lugar que estoy sin su apoyo.
- MSc Víctor Hugo Jiménez, que más que un asesor de tesis y profesor se volvió en un colega. Gracias por enseñarme que la microbiología, más que una ciencia y métodos, es una pasión.
- MSc. Ana Alicia Paz, por ofrecerme siempre su ayuda y darme seguimiento.
- A Maynor Ordoñez, por todo su apoyo, las charlas sobre microbiología y las palabras motivacionales.
- A Orvin Cotí, por apoyarme con todo el tema del equipo e insumos y por su amistad, por hacer más amenos los tiempos de auxiliaturas y clases.

A los amigos que me acompañaron a lo largo de este camino, especialmente a:

A Carlos Muñoz y Victoria Pérez, por todos estos años de amistad, porque los tres por fin llegamos a esta meta que solo nosotros sabemos lo difícil que fue alcanzar, por todo su amor y apoyo.

A Carlos Ramos, por su amor, apoyo y paciencia a lo largo de este tiempo. Gracias por los consejos.

A Ingrid Alemán, Paola Godoy, Brandon Aguilar, Elizabeth Cajas y Joaquín Méndez, gracias por hacer mis años de universidad más amenos y por todo el apoyo y cariño. Me siento agradecida de tenerlos como amigos.

A Jassier Molina y Pablo Palacios, por su incondicionalidad, cariño y amistad por tantos años.

A Jeremiah Brown y Jake Keeny, que sin ellos esto jamás hubiese sido posible. Gracias por haberme dado la oportunidad de regresar a culminar mis estudios.

A Ligia, porque en tan poco tiempo de amistad, me motivó a que no dejara mis sueños atrás y que siguiera adelante.

A Ana Elena Colocho y Briana Villeda, por motivarme a seguir adelante y todo su apoyo durante este viaje. Siempre les guardaré mucho cariño.

Índice

Prefacio	iii
Listado de cuadros.....	vii
Listado de figuras	v
Resumen	vii
Abstract.....	viii
I. Introducción	1
II. Antecedentes	2
A. Prevalencia de patógenos en el queso fresco.....	2
B. Uso de probióticos en la reducción de carga microbiana en queso	2
C. Análisis sensorial de queso inoculado con probióticos	4
D. Evaluación de la vida útil de queso inoculado con probióticos.....	5
III. Justificación	7
IV. Objetivos.....	9
A. General	9
B. Específicos.....	9
V. Hipótesis.....	10
A. Comparación de la aceptación de los atributos sensoriales entre los quesos frescos inoculados con probióticos.....	10
VI. Marco Teórico.....	11
A. Leche	11
B. Queso fresco	13
C. Proceso de elaboración del queso fresco	14
D. Perfil nutricional del queso fresco.....	19
E. Fuentes de contaminación del queso fresco.....	19
F. Principales microorganismos encontrados en el queso fresco	21
G. Probióticos.....	23
H. Bacterias ácido lácticas.....	23
I. Método de dilución decimal seriada	30
J. Método de aislamiento mediante cultivo sólido	31
K. Antagonismo microbiano	32

L. Pruebas de antagonismo.....	34
M. Bioconservación de alimentos	35
N. <i>Salmonella typhimurium</i>	35
O. <i>Escherichia coli</i>	36
P. Vida útil.....	37
VII. Metodología.....	39
A. Preparación de las cepas patógenas y ácido lácticas	39
B. Control de calidad de la leche.....	40
C. Elaboración y contaminación del queso fresco.....	42
D. Evaluación de la actividad antagonica.....	44
E. Análisis microbiológico de los quesos elaborados.....	46
F. Análisis organoléptico y de vida útil.....	49
G. Plan de análisis de datos	51
VIII. Resultados	54
A. Control de calidad de la leche y rendimiento del queso	54
B. Pruebas de antagonismo y selección de cepas	55
C. Reducción en el crecimiento de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	57
D. Reducción en el crecimiento de <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028.....	59
E. Aceptación sensorial de los quesos frescos.....	61
F. Estudio de vida útil.....	70
IX. Discusión de resultados.....	76
A. Control de calidad de la leche y rendimiento del queso	76
B. Pruebas de antagonismo y selección de cepas	78
C. Reducción en el crecimiento de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	79
D. Reducción en el crecimiento de <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028.....	81
E. Aceptación sensorial de los quesos frescos.....	83
F. Estudio de vida útil.....	88
X. Conclusiones	93
XI. Recomendaciones.....	94
XII. Presupuesto.....	95
XIII. Cronograma	98
XIV. Referencias.....	99
XV. Apéndice.....	133

Listado de cuadros

Cuadro 1. Composición típica de la leche de vaca	12
Cuadro 2. Características microbiológicas de los quesos frescos	14
Cuadro 3. Composición nutricional del queso fresco	19
Cuadro 4. Factores que afectan en la supervivencia y crecimiento de <i>Salmonella</i> spp.....	36
Cuadro 5. Composición promedio de la leche cruda utilizada	54
Cuadro 6. pH, porcentaje de ácido láctico y grados Dornic de la leche pasteurizada	54
Cuadro 7. Resultados microbiológicos de <i>E. coli</i> y <i>Salmonella</i> spp. en la leche pasteurizada	54
Cuadro 8. Rendimiento promedio del queso.....	55
Cuadro 9. Temperatura promedio de almacenamiento del queso y la leche.....	55
Cuadro 10. Resultados promedio obtenidos para las pruebas de antagonismo entre los probióticos y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	55
Cuadro 11. Resultados promedio obtenidos para las pruebas de antagonismo entre los probióticos y <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	56
Cuadro 12. Recuento promedio de log UFC/g de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 en los quesos frescos contaminados a lo largo del tiempo de experimentación.....	58
Cuadro 13. Recuento promedio de log UFC/g de <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 los quesos frescos contaminados a lo largo del tiempo de experimentación	59
Cuadro 14. Análisis de varianza (ANOVA) unifactorial para evaluar los atributos sensoriales comparando los diferentes probióticos inoculados al queso fresco.....	66
Cuadro 15. Valores de pH promedio a lo largo del estudio de vida útil.....	71
Cuadro 16. Porcentaje de ácido láctico promedio a lo largo del estudio de vida útil	73
Cuadro 17. Propiedades sensoriales de los quesos al inicio y final de la vida útil	74
Cuadro 18. Presupuesto necesario para poder llevar a cabo la evaluación de la actividad antagonica de tres cepas probióticas contra <i>E. coli</i> ATCC 25922 y <i>S. typhimurium</i> ATCC 14028 en queso fresco artesanal	95
Cuadro 19. Programación de actividades para poder llevar a cabo la evaluación de la actividad antagonica de tres cepas probióticas contra <i>E. coli</i> ATCC 25922 y <i>S. typhimurium</i> ATCC 14028 en queso fresco artesanal.....	98
Cuadro 20. Mediciones fisicoquímicas de la leche empleada en la experimentación	133
Cuadro 21. Composición determinada de la leche empleada en la experimentación	133
Cuadro 22. Análisis microbiológicos de la leche empleada en la experimentación	134
Cuadro 23. Resultados de las pruebas de antagonismo para <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	134

Cuadro 24. Resultados de las pruebas de antagonismo para <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028.....	135
Cuadro 25. Recuentos microbiológicos de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 en los quesos frescos elaborados	136
Cuadro 26. Recuentos microbiológicos de <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 en los quesos frescos elaborados	139
Cuadro 27. Mediciones de pH y ácido láctico de los quesos frescos durante el análisis de vida útil.....	142
Cuadro 28. Porcentajes de ácido láctico y propiedades sensoriales de los quesos obtenidas a lo largo del estudio de vida útil	143
Cuadro 29. Valoraciones obtenidas en el panel para las 5 muestras evaluadas de queso fresco	148
Cuadro 30. Prueba de Tukey elaborada para el atributo de aceptación general evaluado en los quesos frescos	155
Cuadro 31. Prueba de Tukey elaborada para el atributo de color evaluado en los quesos frescos.....	155
Cuadro 32. Prueba de Tukey elaborada para el atributo de olor evaluado en los quesos frescos.....	156
Cuadro 33. Prueba de Tukey elaborada para el atributo de textura evaluado en los quesos frescos.....	156
Cuadro 34. Prueba de Tukey elaborada para el atributo de sabor evaluado en los quesos frescos.....	156
Cuadro 35. Temperaturas de almacenamiento de los quesos frescos	157

Listado de figuras

Figura 1. Método de la dilución decimal seriada.....	31
Figura 2. Cepa de <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 inoculada en TSB	39
Figura 3. Cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 inoculada en TSB.....	40
Figura 4. Cepas probióticas inoculadas en caldo MRS.....	40
Figura 5. Determinación de la composición de la leche, acidez, pH, <i>E. coli</i> y <i>Salmonella</i> spp. en la leche	42
Figura 6. Diagrama de flujo de los pasos para la elaboración del queso	43
Figura 7. Cepas probióticas picadas en agar MRS y halos de inhibición resultantes de la prueba de spot test.....	45
Figura 8. Centrifugadora utilizada durante la experimentación y halos de inhibición resultantes de la prueba por difusión.....	46
Figura 9. Determinación de <i>E. coli</i> en los quesos frescos y recuentos obtenidos en las cajas Petri	47
Figura 10. Determinación de <i>S. typhimurium</i> en los quesos frescos y recuentos obtenidos en las cajas Petri	49
Figura 11. Preparación de muestras de los quesos para el panel sensorial	49
Figura 12. Panelistas evaluando las muestras de queso fresco presentadas.....	50
Figura 13. Medición de pH en los quesos frescos	50
Figura 14. Determinación de la acidez titulable en las muestras de queso fresco	51
Figura 15. Evolución de los recuentos promedio de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 en los quesos frescos contaminados a lo largo del tiempo	57
Figura 16. Unidades logarítmicas reducidas promedio de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 al final del estudio	58
Figura 17. Evolución de los recuentos promedio de <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 en los quesos frescos contaminados a lo largo del tiempo.....	59
Figura 18. Unidades logarítmicas reducidas promedio de <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 al final del estudio	60
Figura 19. Puntuación promedio de la aceptación general de las muestras de queso fresco	61
Figura 20. Puntuación promedio de la aceptación del color de las muestras de queso fresco	62
Figura 21. Puntuación promedio de la aceptación del olor de las muestras de queso fresco	63
Figura 22. Puntuación promedio de la aceptación de la textura de las muestras de queso fresco.....	64

Figura 23. Puntuación promedio de la aceptación del sabor de las muestras de queso fresco	65
Figura 24. Distribución de los atributos sensoriales de los quesos frescos	66
Figura 25. Comparaciones múltiples de medias para evaluar las diferencias de la aceptación general de los quesos frescos elaborados	67
Figura 26. Comparaciones múltiples de medias para evaluar las diferencias del color de los quesos frescos elaborados	67
Figura 27. Comparaciones múltiples de medias para evaluar las diferencias del olor para los quesos frescos elaborados.....	68
Figura 28. Comparaciones múltiples de medias para evaluar las diferencias de la textura para los quesos frescos elaborados.....	68
Figura 29. Comparaciones múltiples de medias para evaluar las diferencias del sabor para los quesos frescos elaborados.....	69
Figura 30. Comportamiento del pH promedio a lo largo de la vida útil de los quesos frescos	70
Figura 31. Comportamiento del contenido de ácido láctico promedio a lo largo de la vida útil de los quesos frescos	72
Figura 32. Vida útil de los quesos frescos elaborados	75
Figura 33. Escala hedónica utilizada.....	157

Resumen

El queso fresco es uno de los productos derivados de la leche más producidos en Guatemala. De acuerdo con el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC), la leche cruda y el queso fresco se consideran como los causantes del 96 % de las enfermedades transmitidas por alimentos.

En la actualidad, no se ha establecido un tratamiento biológico considerado efectivo en la disminución de los microorganismos patógenos o que haya reducido significativamente la carga microbiana sin afectar las características sensoriales y fisicoquímicas de este tipo de alimento. La contaminación del queso fresco puede producirse por la utilización de leche no pasteurizada, a través de agua contaminada durante el proceso, el aire, los utensilios, el suelo o durante su transporte. Asimismo, se tiene deficiencias en las buenas prácticas de manufactura durante su procesamiento, así como el mal manejo de temperaturas y tiempos y fallas durante la manipulación.

Debido a lo anteriormente mencionado, en el presente estudio se pretende determinar la evaluar el desempeño de tres cepas probióticas y una mezcla de estas, con el fin de establecer si los probióticos logran reducir la concentración de patógenos en muestras de queso fresco artesanal sin afectar sus propiedades organolépticas de forma significativa. Para poder realizar esta investigación, se elaboraron quesos frescos que fueron inoculados con los patógenos *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 y *Escherichia coli* ATCC 25922, así como con las cepas seleccionadas de probióticos, las cuales fueron *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435 y *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338.

Se determinó que el probiótico que presentó mejores resultados fue *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435, ya que extendió la vida útil por 15 días al comparar con el queso control, además de que disminuyó la carga de ambos patógenos. En cuanto a los atributos sensoriales, se estableció que no existe una diferencia estadísticamente significativa en las propiedades organolépticas de los quesos frescos al añadir los distintos probióticos. Sin embargo, se tuvo desviaciones en los recuentos microbiológicos elaborados a los quesos, por lo que se podría optar por métodos más sensibles y exactos para esta determinación, como PCR.

Abstract

Fresh cheese is one of the most widely produced dairy products in Guatemala. According to the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) of the United States, raw milk and fresh cheese are considered responsible for 96 % of foodborne illnesses.

Currently, no biological treatment has been established that is considered effective in reducing pathogenic microorganisms or significantly decreasing the microbial load without affecting the sensory and physicochemical characteristics of this type of food. Fresh cheese contamination may result from the use of unpasteurized milk, contaminated water during processing, air, utensils, soil, or during transportation. Additionally, deficiencies in good manufacturing practices during processing, improper temperature and time management, and handling failures are also observed.

Due to the previously mentioned issues, this study aims to evaluate the performance of three probiotic strains and a mixture of them to determine whether probiotics can reduce the concentration of pathogens in samples of artisanal fresh cheese without significantly affecting its organoleptic properties. To carry out this research, fresh cheeses were produced and inoculated with the pathogens *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 and *Escherichia coli* ATCC 25922, as well as with the selected probiotic strains, which were *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042, *Lactococcus lactis subsp. lactis* ATCC 19435, and *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338.

It was established that the probiotic strain that presented the best results was *Lactococcus lactis subsp. lactis* ATCC 19435, as it extended the shelf life by 15 days compared to the control cheese and reduced the load of both pathogens. Regarding the sensory attributes, it was established that there is no statistically significant difference in the organoleptic properties of the fresh cheeses with the addition of the different probiotics. However, deviations were observed in the microbiological counts performed on the cheeses, suggesting that a more sensitive and accurate method, such as PCR, could be suitable for this determination.

I. Introducción

El queso fresco se encuentra entre los productos derivados de la leche más frecuentemente elaborados en Guatemala. Según el estudio realizado por el Instituto Nacional de Estadística Guatemala -INE- en 2017, el consumo de queso fresco por las familias guatemaltecas es de 34.46 gramos/día y dicho consumo se debe a que se considera una fuente de proteína barata, además de que su ingesta aporta calorías, grasas, vitaminas y minerales.

El queso fresco artesanal puede contaminarse con patógenos como consecuencia a las deficiencias que se tienen durante su elaboración. Según el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC), la leche cruda y el queso fresco se consideran como los causantes del 96 % de las enfermedades transmitidas por alimentos, haciendo mención que estos productos no pasteurizados causan 840 veces más enfermedades y 45 veces más hospitalizaciones que estos mismos productos lácteos elaborados a partir de leche pasteurizada.

También se ha reportado que, con la finalidad de cubrir las prácticas deficientes durante la elaboración del queso, se agregan sustancias extrañas para la conservación, tales como formol, antibióticos o cantidades excesivas de aditivos, los cuales pueden tener una repercusión en la salud de los consumidores.

Con el fin de disminuir la carga microbiológica que pueda contener el queso fresco artesanal, se ha llevado a cabo una serie de investigaciones en las cuales este es tratado con probióticos, ya que estos microorganismos presentan actividad antagónica. Hasta la fecha, se ha identificado un número reducido de tratamientos que han logrado disminuir la carga microbiana de patógenos hasta 4 log UFC/g; sin embargo, no se han establecido tratamientos efectivos para el queso fresco que resulten en la reducción de microorganismos patógenos y que no afecten de forma negativa las propiedades organolépticas. Por consiguiente, en esta investigación se tiene como finalidad aplicar distintos probióticos en quesos frescos para evaluar si estos logran prolongar la vida útil del queso y reducir la carga microbiológica de patógenos, sin impactar las características sensoriales de forma significativa.

Para ejecutarlo, se aplicaron cuatro inóculos de probióticos distintos en los quesos frescos, evaluando la reducción microbiológica de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 y *Escherichia coli* ATCC 25922; además, se evaluaron los atributos sensoriales y la vida útil de los quesos que contenían probióticos.

II. Antecedentes

A. Prevalencia de patógenos en el queso fresco

Barrios (2006) llevó a cabo la evaluación microbiológica del proceso de elaboración de queso fresco y producto final expendido en la Unidad de Comercialización de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, en dónde se realizaron recuentos de coliformes fecales, *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella* spp. Los resultados que se obtuvieron en el producto final fueron >10 UFC/g de coliformes fecales, >1 UFC/g de *E. coli* y >1,000 UFC/g de *S. aureus*, por lo que el queso fresco fue reportado como no apto para el consumo humano según los parámetros sugeridos por la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF) para coliformes fecales (<10 UFC/g) y *E. coli* (<1 UFC/g) y por la norma COGUANOR NGO 34 197 para *S. aureus* (<100 UFC/g) y *Salmonella* spp., la cual debe estar ausente (ICMSF, 1991; COGUANOR NGO 34 197, 1975).

Revisiones bibliográficas han demostrado que los microorganismos comúnmente reportados ante las entidades de salud de América Latina y Estados Unidos como causantes de enfermedades transmitidas por el consumo de queso fresco entre 2007 y 2016, son *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. y *Clostridium perfringens*. Asimismo, se determinó la prevalencia de estos patógenos, reportándose valores de: 2.1-28.1 % para *E. coli*, 6.7 % para *L. monocytogenes*, 13.7-40.7 % para *Salmonella* spp. y 18.4 % para *C. perfringens* (Merchán et al., 2018).

B. Uso de probióticos en la reducción de carga microbiana en queso

Se ha estudiado el uso de bacterias ácido lácticas en el control de patógenos como *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo; se encontró que, al utilizar *Lactobacillus sakei* en queso Calabria, se tenía una reducción entre 0.5-1.0 UFC/log con respecto al inóculo inicial. De igual manera, se identificó que, al agregar *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FT27 a la superficie del queso gorgonzola, *L. monocytogenes* no era detectable luego de 60 días. Finalmente, se determinó que, al agregar *Lactobacillus brevis* 2-392, *Lactobacillus plantarum* 1-399 y *Enterococcus faecales*, se tenía una reducción de 4 log UFC/g al comparar con el inóculo inicial de *L. monocytogenes*, luego de 15-21 días (Webb, Luyao y Lu, 2022).

La actividad antagonica de las bacterias ácido lácticas ante *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* ha sido comprobada. Se determinó que, a partir del queso fresco, es posible aislar 75 cepas probióticas; se midió la actividad antagonica de estas a través del método de difusión de agar, observando que 10 de estos probióticos presentaron actividad

antagónica importante, siendo *Lactobacillus plantarum* la cepa que mostró actividad frente a ambos patógenos. De igual manera, *Lactobacillus brevis* y *Lactobacillus pentosus* fueron antagónicas frente a *Listeria monocytogenes* (Peralta, 2014).

El uso de probióticos para la reducción de patógenos presentes en el queso fresco ha sido estudiado con anterioridad, pues este se considera como un método de conservación natural. Se ha aplicado bacterias ácido lácticas para reducir la cantidad de patógenos presentes regularmente en los alimentos, encontrando que la cepa productora de reuterina *Lactobacillus reuteri* INIA P572 presenta un efecto antimicrobiano significativo ante *L. monocytogenes* y *E. coli* O157:H7 en queso blanco ultrafiltrado. Asimismo, se ha evaluado la reducción de *E. coli* ATCC 25922 y *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 utilizando *Lactobacillus paracasei* M5-L, *L. rhamnosus* J10-L, *L. casei* Q8-L y *L. rhamnosus* ATCC 53103 en Agar Tripticosa Soya (TSA), en dónde se evidenciaron zonas de inhibición con diámetros entre 1mm y 2mm en el agar (Gao et al., 2019).

Por otro lado, se ha investigado la bioconservación de los quesos frescos de Metapán, utilizando la cepa probiótica *Lactobacillus rhamnosus* Howaru™ frente a *Listeria Monocytogenes* ATCC 19118, además de evaluar la vida útil y características de los quesos inoculados con el probiótico. Primero, se determinó la calidad microbiológica inicial del queso fresco utilizando los criterios mencionados en el RTCA 67.04.50:08: “Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de Alimentos”. Posteriormente, se inocularon los quesos frescos con las cepas estandarizadas en concentraciones de 10^6 y 10^7 UFC/g para *Lactobacillus rhamnosus* Howaru™ y 10^3 y 10^5 UFC/g para *Listeria Monocytogenes* ATCC 19118, realizando recuentos a los cero, tres, cinco, ocho y quince días. Al final del estudio, se encontró que, a concentraciones altas de la cepa de *Listeria monocytogenes* ATCC 19118, el probiótico no lograba inhibir el crecimiento de esta; por otro lado, cuando se tenía concentraciones menores de la cepa patógena, el probiótico lograba inhibir su crecimiento completamente hasta los tres días de ensayo, sin tener un efecto en las concentraciones organolépticas. Finalmente, también se estableció que la vida de anaquel de los quesos frescos inoculados con la cepa probiótica resultó ser más larga, pues las características organolépticas se mantuvieron hasta ocho días, mientras que las del queso de referencia se pierden a los tres días cuando estos son almacenados a temperaturas entre 4.8-5.1 °C (Martínez y Trujillo, 2017).

Álvarez (2011) realizó un estudio acerca del efecto de *Lactobacillus casei* ATCC 393™ sobre *Escherichia coli* durante la vida comercial del queso fresco, inoculando de manera conjunta al queso fresco experimental tres poblaciones de *Lactobacillus casei* ATCC 393™ (10^3 , 10^6 y 10^9 ufc/mL) y una población de *Escherichia coli* ATCC 25922 (10^3 ufc/mL). Estos quesos fueron almacenados a 8 °C por 10 días, en dónde se realizaron pruebas fisicoquímicas y microbiológicas diariamente. Como resultados, se pudo ver que el tratamiento con una población inicial de 10^9 ufc/mL de *Lactobacillus casei* ATCC 393™ presentó un efecto bactericida, lo que permitió una mayor inhibición y reducción poblacional de *Escherichia coli*. De igual manera, se determinó que la inhibición de *Escherichia coli* se debió, probablemente, a la acumulación de las bacteriocinas secretadas por la cepa *Lactobacillus casei* ATCC 393™ y no por la producción de ácido láctico.

Se ha investigado sobre la bioconservación de queso fresco mediante la adición de *Lactococcus lactis* UQ2 y el uso de un recubrimiento activo comestible elaborado con caseinato de sodio y quitosano, agregando natamicina y arginato láurico como agentes antimicrobianos para evitar el deterioro del queso fresco por la pérdida de humedad y proliferaciones microbianas, en dónde se encontró que el uso combinado del recubrimiento activo comestible y las microcápsulas de *L. lactis* UQ2 dieron una buena capacidad de inhibición *in situ* contra *Listeria monocytogenes* en el queso fresco, ya que se redujeron 1.5 log UFC/g en los primeros 4 días de almacenamiento, a la vez que también redujo en más de 10 veces la población de mohos y levaduras en queso fresco, alargando así la vida de anaquel del producto, pues aumentó la vida útil 5 días más comparado con el control (Maya, 2021).

Asimismo, se ha evaluado el efecto inhibitorio de dos concentraciones de nisina (10.0 y 16.7 mg/kg) en poblaciones de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y coliformes totales en queso blanco tipo “telita” manufacturado en una fábrica de queso de Upata, Venezuela. Se encontró que las dos concentraciones de nisina adicionadas al queso tuvieron un efecto inhibitorio en la población de *S. aureus*. De igual forma, tampoco se detectó *Salmonella* spp. ni *Listeria monocytogenes* en ninguna de las muestras analizadas. Los recuentos de coliformes totales y de *E. coli* encontrados en el queso sin nisina no mostraron variación al compararlos con los recuentos de las muestras de queso inoculadas con las dos concentraciones de nisina (Márquez y García, 2007).

C. Análisis sensorial de queso inoculado con probióticos

Se ha estudiado el impacto de la adición de probióticos en las características sensoriales de distintos quesos; por ejemplo, se analizó los atributos organolépticos de un queso cheddar inoculado con un cultivo iniciador, *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum*; se dejó madurar por 60 días el queso cheddar y luego este fue evaluado por un panel no entrenado con hábito de consumo de productos lácteos, conformado por 12 personas. Se realizó un análisis de aceptación para establecer si existen diferencias significativas entre los tratamientos, los cuales fueron: con cultivo iniciador (T1), cultivo iniciador y *Lactobacillus acidophilus* (T2) y con cultivo iniciador y *Bifidobacterium bifidum* (T3). Al final del experimento, se encontró que, al evaluar la apariencia, aroma, textura, acidez, sabor y aceptación general, no se presentaron diferencias significativas al comparar con el queso control (Naranjo, 2008).

Por otro lado, se ha evaluado la adición de *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* a un queso maduro, teniendo como fin determinar el tiempo adecuado de maduración del queso con base a la aceptación de los atributos sensoriales de textura y sabor. Se hizo una prueba de aceptación con 75 consumidores, evaluando la aceptabilidad, sabor y textura del queso a los 13, 30 y 45 días de maduración; no obstante, al analizar los resultados de la experimentación, se estableció que no existió diferencia significativa en la aceptabilidad del sabor y la textura para los quesos, a pesar de que fueron sometidos a distintos tiempos de maduración (Boza, Morales y Henderson, 2010).

También se propuso agregar *Lactobacillus acidophilus* al queso fresco para examinar la influencia del probiótico en las características fisicoquímicas y organolépticas de este, realizando análisis sensoriales a los 8 y 15 días después de la fabricación para detectar las diferencias entre los quesos elaborados, un queso control y un queso comercial. Para realizar este análisis sensorial, se utilizó de una prueba de comparaciones múltiples con base a tres estímulos, utilizando a 8 jueces semientrenados que evaluaron el sabor, aroma y textura. Se encontró que *Lactobacillus acidophilus* brinda características sensoriales favorables al queso fresco después de 8 días de almacenamiento, especialmente en el sabor, pues este resultó ser más agradable en el queso con probióticos que en las muestras de queso control y comercial (Zambrano, 2010).

Por último, se investigó sobre los efectos del cultivo probiótico *Mesophilic Homofermentative* en las características sensoriales del queso fresco al utilizar distintas dosis de este (1, 2 y 3 gramos), llevando a cabo una prueba de aceptación con un panel semi entrenado conformado por 30 personas. Al realizar la evaluación de los resultados, se encontró que existían diferencias significativas entre las dosis aplicadas en el queso, principalmente en los atributos de sabor, color, textura y calidad general. Se observó que el tratamiento que tuvo una mejor aceptación fue en el que se aplicó únicamente un gramo del cultivo probiótico, ya que este aportó características sensoriales favorables, especialmente en el sabor (Cedeño y Mera, 2015).

D. Evaluación de la vida útil de queso inoculado con probióticos

Se han producido quesos frescos con probióticos y, como parte de esa experimentación, se ha hecho estudios de su vida útil; se experimentó con la adición de *Lactobacillus plantarum* T571 a esta matriz. Se determinó que los valores fisicoquímicos de pH, acidez titulable y actividad de agua se encontraban dentro de los valores usuales para este tipo de producto. Sin embargo, fue evidente que el pH y la acidez titulable fueron significativamente afectados por la presencia del cultivo probiótico. Los autores encontraron que el microorganismo *Lactobacillus plantarum* T571 producía bajos niveles de ácido láctico, ya que el valor del pH de la leche era de 6.70 y se redujo a 6.51 en el queso probiótico al primer día de almacenamiento, mientras que el queso control tenía un valor de pH de 6.63. De igual manera, se observó que el aumento de la acidez titulable fue más intenso en las muestras de queso que contenían el probiótico. Se consideró que el tiempo de vida útil para estos quesos fue de aproximadamente 42 días, almacenados a 4 °C, empacados al vacío (Papadopoulou y Chroanopoulos, 2016).

Por otro lado, se añadió *Lactobacillus acidophilus* a queso suave reducido en sal (3% de concentración). El probiótico se aplicó en dosis de 1 y 3% y las muestras fueron analizadas en el minuto 0 y cada 3 días hasta que se identificó el deterioro del queso. El pH de las muestras control, y de *Lactobacillus acidophilus* aplicado a 1 % y 3 % fueron de 6.42, 6.33 y 6.47 en el minuto 0, los cuales decrecieron al final de la vida útil a 5.89, 5.65 y 5.43, respectivamente. Se encontró que el queso control tuvo una vida útil de 18 días, mientras que ambas muestras con probiótico duraron 27 días (Sobeih, Ibrahim y Elbarbary, 2011).

Finalmente, se han aplicado probióticos con la finalidad de extender la vida útil de los productos lácteos; se añadió *Pediococcus acidilactici* para hacer más duradero el queso suave y mejorar la calidad de este. Se hicieron tres tratamientos: muestra control, muestra con *Pediococcus acidilactici* al 1 % y muestra con pediocina cruda. El experimento fue monitoreado en el minuto cero y durante el almacenamiento en refrigeración (4-7°C) hasta que se denotaron señales de deterioro a través de sus parámetros sensoriales, índices de acidez y estado microbiológico. Los resultados demostraron que la adición del probiótico al 1 % mejoró la calidad y extendió la vida útil a 29 días; por el contrario, la pediocina cruda aumentó la vida útil a 34 días, permitiendo que el queso tuviese buenas características organolépticas. Las muestras control tuvieron una duración de 18 días (Mohamed et al., 2013).

III. Justificación

Uno de los productos derivados de la leche más elaborados por las pequeñas queserías de Guatemala es el queso fresco. Este producto es accesible para la mayoría de la población y provee una fuente de proteína relativamente barata; además, el consumo del queso fresco también contribuye a la ingesta de calorías, grasa, vitaminas y minerales (Velásquez, 2008). Según el estudio realizado por el Instituto Nacional de Estadística Guatemala -INE- en 2017, el consumo de queso fresco por las familias guatemaltecas es de 34.46 gramos/día. Asimismo, la Asociación para la Promoción y el Desarrollo de la Comunidad -CEIBA- en 2010 estableció que el consumo de queso fresco por familia había incrementado a lo largo de los años, pues en 2004 se consumían 14.6 gramos/día, en 2007 18.35 gramos/día y en 2010 23.32 gramos/día.

De acuerdo con el estudio realizado por Merchán et al., (2018), en un informe publicado por el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC), se estableció que, en Estados Unidos, la leche cruda y el queso causan el 96 % de las enfermedades transmitidas por alimentos, mencionando que estos productos no pasteurizados causan 840 veces más enfermedades y 45 veces más hospitalizaciones que estos mismos productos lácteos elaborados con leche pasteurizada. Los patógenos reportados con mayor frecuencia en el queso fresco son *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* y *Brucella spp.*

En Sacatepéquez, Guatemala el 18 de agosto de 2022 se notificó sobre una alerta epidemiológica por un brote de intoxicación alimentaria ocasionada por consumir queso fresco contaminado. De acuerdo con el Ministerio de Salud, se contabilizaron 45 casos de intoxicación por consumo de queso fresco artesanal envuelto en “hoja verde natural” y distribuido por un repartidor particular. El 53 % de los casos necesitó de atención hospitalaria, mientras que el 47 % de los pacientes fueron atendidos de forma ambulatoria (Barrientos, 2022). Los afectados presentaron síntomas como vómitos, dolor abdominal y fiebre. En la alerta que se lanzó se recomendó no consumir quesos frescos del que no se conociera el origen, a menos que en la etiqueta indicase que había sido elaborado con leche pasteurizada. También se le pidió a la población reforzar el lavado de manos y la adecuada preparación, manipulación y conservación de los alimentos. Finalmente, se indicó que el brote fue causado por una bacteria en los quesos, aunque nunca se reveló de cuál se trataba (García, 2022).

El queso artesanal puede volverse un vehículo transmisor de patógenos como consecuencia de las deficiencias que se tienen durante la fabricación en puntos críticos, tales como el mal manejo de tiempos y temperaturas durante el procesamiento y fallas durante la manipulación (Merchán et al., 2019). Usualmente, la elaboración del queso se realiza a partir de leche cruda sin ningún tratamiento previo; la cantidad y tipos de

microorganismos presentes en la materia prima dependen de la alimentación de los animales, el saneamiento general del establecimiento de fabricación y la calidad del agua utilizada para lavar utensilios (Merchán et al., 2018). Debido a estas prácticas deficientes durante la elaboración del queso, la vida de anaquel de este se vuelve más corta, lo que ocasiona pérdidas económicas a los productores; se ha estimado que se pierde alrededor del 22 % de leche y productos lácteos en América Latina, siendo la principal razón de pérdidas el estropeado del producto (Esteban, 2018).

Según el estudio realizado por Obed et al., (2018), se ha determinado la presencia de sustancias extrañas para la conservación de los productos lácteos; se tiende a agregarles formol, antibióticos o cantidades excesivas de aditivos alimentarios para inhibir el crecimiento microbiano en los mismos; de igual manera, se adultera la leche con aditivos no permitidos por el Codex Alimentarius o con antibióticos. Sin embargo, aunque estos químicos ayuden a conservar la leche y sus derivados, se considera una mala práctica la adición de estos, pues puede afectar la salud de los consumidores, atentando así contra la salud pública ya que pueden provocarse alergias y resistencia a los antibióticos.

Por otro lado, los probióticos son microorganismos vivos que confieren un efecto beneficioso para la salud del huésped, cuando se administran en la cantidad adecuada. Estos tienen como beneficios combatir enfermedades intestinales como colitis, mejorar la digestión, combatir el estreñimiento y la diarrea y ayudan a aumentar la absorción de la vitamina B, calcio y hierro (Sánchez, Ruiz y Morales, 2015). Además, estos han demostrado capacidad para producir metabolitos con actividad antimicrobiana que evitan el desarrollo de microorganismos patógenos (Martín del Campo, Gómez y Alaníz, 2008).

Se ha investigado la actividad antagónica de los probióticos en el queso con anterioridad, sin embargo, no se ha realizado la investigación utilizando tres distintas cepas en esta matriz. Debido a lo anteriormente mencionado, se busca evaluar siete cepas probióticas para identificar las tres que presenten una mayor actividad antagónica ante los patógenos a evaluar; se hará la adición de estas las cepas probióticas y una mezcla de estas a muestras de queso fresco artesanal para evaluar su desempeño en la reducción de la carga microbiana de *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli*. La inoculación de estos probióticos podría ser considerado como un conservante natural que permita reducir las incidencias epidemiológicas por el consumo de queso fresco, también ayudando así a la reducción del uso de conservantes de origen químico, como los sorbatos y tartratos.

IV. Objetivos

A. General

Evaluar el desempeño de las cepas probióticas en la disminución de la carga microbiana de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 y *Escherichia coli* ATCC 25922 en queso fresco artesanal.

B. Específicos

1. Evaluar la cantidad de unidades logarítmicas reducidas de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 y *Escherichia coli* ATCC 25922 al utilizar probióticos como agentes antagonistas en queso fresco artesanal.
2. Caracterizar las propiedades organolépticas de los quesos frescos elaborados inoculados con las cepas probióticas para compararlas con un queso fresco artesanal patrón.
3. Determinar el tiempo de vida de anaquel de los quesos frescos inoculados con probióticos a temperaturas de refrigeración a través de la medición de las propiedades fisicoquímicas, comparándolas con un queso fresco artesanal patrón.

V. Hipótesis

A. Comparación de la aceptación de los atributos sensoriales entre los quesos frescos inoculados con probióticos

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$$

H_a : no todas las medias muestrales son iguales.

Donde:

- μ_1 = Valor medio de x obtenido para el queso control.
- μ_2 = Valor medio de x obtenido para el queso inoculado con *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042.
- μ_3 = Valor medio de x obtenido para el queso inoculado con *Lactococcus lactis subsp. Lactis* ATCC 19435.
- μ_4 = Valor medio de x obtenido para el queso inoculado con *Limosilactobacillus fermentum* ATCC 9338.
- μ_5 = Valor medio de x obtenido para el queso inoculado con la mezcla de los tres probióticos mencionados con anterioridad.

x = atributos sensoriales (aceptación general, color, olor, textura y sabor).

VI. Marco Teórico

A. Leche

1. Definición

La secreción láctea proveniente de los mamíferos es un líquido de estructura y composición compleja, con color blanco opaco, sabor suave, olor característico y pH cercano al neutro. El contenido graso se encuentra en forma de emulsión, mientras que las proteínas se encuentran en suspensión y el resto de los componentes, tales como la lactosa, minerales, etc., se encuentran disueltas. Dentro de las características físicas que se le evalúan a la leche se encuentran la densidad, el contenido de grasa, el punto de congelación, sólidos no grasos y la acidez titulable (Arteaga, 2016).

Poggio (2015) indica que el término “leche” se utilizará de forma exclusiva para el producto de secreción mamaria normal, obtenida mediante uno o varios ordeños, sin ninguna adición ni sustracción, la cual posee de un 3-4% de grasa, 3.5% de proteínas y 5% de lactosa en su composición, aunque la composición puede variar según la especie de procedencia.

2. Composición química

La leche es una mezcla compleja de diferentes sustancias, las cuales se encuentran presentes en suspensión o emulsión y otras en forma de solución, conformada por sustancias definidas como agua, grasa, proteína, lactosa, vitaminas, minerales. A este conjunto de sustancias se les define como extracto seco o sólidos totales. Los sólidos totales pueden variar por diversos factores, como lo son la raza, el tipo de alimentación, el medio ambiente y el estado sanitario de la vaca (Agudelo y Bodeya, 2005).

La leche con mayor concentración de sólidos, esencialmente de proteína y grasa, aportan más nutrientes al consumidor y mejoran la capacidad de la leche para convertirse en un producto lácteo. Se ha definido que los factores que más afectan en la composición de esta son la dieta, clima, etapa de lactancia y la genética (Calvache y Navas, 2012). La leche de vaca tiene la composición estimada que se muestra en el Cuadro 1, sabiendo que esta composición tiende a variar por los factores mencionados con anterioridad.

Cuadro 1. Composición típica de la leche de vaca

Nutriente	Contenido		
	(a)	(b)	(c)
Agua (%)	88	87.9	87.0
Lactosa (%)	4.7	4.7	4.8
Grasa (%)	3.4	3.4	4.0
Proteína (%)	3.2	3.1	3.5
Sales minerales (%)	0.72	0.9	0.7

Fuentes: (a): Agudelo y Bedoya (2005); (b): Cunningham (2011); (c): Magariños (2010).

a) Agua

El contenido de agua de la leche de diferentes especies de mamíferos puede variar del 36 % al 90.5 %; sin embargo, usualmente representa un 87 % del contenido total de la leche. Esta variación puede deberse a la alteración de cualquiera de los otros componentes que esta posee, como las proteínas, lactosa y, sobre todo, la grasa (Estrada, 2011).

b) Grasa

La grasa se encuentra en la leche en una suspensión acuosa en forma de pequeños glóbulos dispersos de mayor o menor tamaño recubiertos de una membrana que la protege de la degradación y en cuyo interior se encuentran los triglicéridos. La cantidad de materia grasa presente en cualquier leche varía en función de la alimentación de la vaca, estación del año, estado de lactancia y el número de partos de la vaca, la raza, genética y el manejo y estado sanitario del animal (López y Barriga, 2016).

c) Proteína

Las proteínas de la leche son consideradas como el componente más importante desde el punto de vista nutritivo (López y Barriga, 2016). La caseína se encuentra suspendida en la leche a través de micelas. El papel nutricional de esta es el suministro de aminoácidos, calcio y fósforo inorgánico. Por otro lado, las proteínas del suero de leche se clasifican en albúminas y globulinas. Estas proteínas son consideradas de alto valor biológico, ya que cuentan con un amplio perfil de aminoácidos que incluyen aminoácidos azufrados, de cadena ramificada, lisina y triptófano (Estrada, 2011; Agudelo y Bedoya, 2005).

d) Carbohidratos

Se considera que la lactosa es el único carbohidrato de la leche, conteniéndola en un 4.5 % aproximadamente. Esta es un 85 % menos dulce que la sacarosa y contribuye, junto con las sales, al sabor global de la leche, siendo las cantidades de lactosa y de sales inversamente proporcionales (Estrada, 2011). La lactosa es un azúcar que puede ser

fermentado por microorganismos para producir ácido láctico, dióxido de carbono y otros compuestos importantes como el diacetilo, que intervienen en la formación del aroma. El ácido láctico origina una disminución de pH indispensable para lograr la coagulación en la elaboración de leches fermentadas y quesos (López y Barriga, 2016).

e) Sales minerales

Los minerales forman parte de la leche en una proporción baja (0.5-1 %), aunque estos ejercen una gran influencia sobre las características de esta y su reología. La mayor parte de las sales están disueltas (moléculas e iones) y otras lo están en estado coloidal formando compuestos con la caseína. Gran parte son minerales como el fósforo, cloruros y bicarbonatos, aunque también hay de origen orgánico como el citrato, el cual interviene en el equilibrio del calcio (López y Barriga, 2016).

f) Vitaminas

La leche contiene vitaminas como A, D, E, K, B1, B2, B6, B12, C, carotenos, nicotinamida, biotina y ácido fólico; la concentración de estas se encuentra sujeta a cambios dependiendo de la época del año, tiempo atmosférico, ambiente y alimentación. La alimentación de la vaca tiene repercusiones en la cantidad de carotenos y vitamina A que posee la leche (Agudelo y Bedoya, 2005).

La vitamina D interviene en la absorción del calcio y fósforo en el intestino, además resulta ser indispensable para el buen mantenimiento del sistema óseo a lo largo de la vida. Se encuentra en muy bajas concentraciones en el caso de leche y derivados a los que no se les ha adicionado esta vitamina. Por otro lado, la vitamina E, también llamada tocoferol, es considerada un antioxidante que protege a las membranas de las células del daño por radicales libres (Estrada, 2011; Fernández et al., 2015).

B. Queso fresco

1. Características generales

De acuerdo con la norma COGUANOR NGO 34 197, el queso es el producto lácteo sin madurar o madurado, obtenido por la coagulación enzimática y/o ácida de la leche, suero de leche, crema o cualquier combinación de estos, después de drenar el suero formado, con o sin aplicación de calor, y con o sin la adición de otros ingredientes y aditivos alimentarios. Esta norma también expresa que el queso fresco es el queso no madurado ni escaldado, moldeado, de textura relativamente firme, levemente granular, preparado con leche íntegra, semidescremada o descremada, cuajada por enzimas y/o ácidos orgánicos, generalmente sin cultivos lácticos (COGUANOR NGO 34 197, 1975).

La vida útil del queso fresco puede llegar a ser de aproximadamente dos semanas, dependiendo del proceso de elaboración y condiciones de almacenamiento, siendo esta vida útil más prolongada para productos industriales, ya que se les agregan aditivos y conservantes, por el contrario, un producto artesanal al cual no se le añaden preservantes,

la vida útil se puede delimitar a una semana. Su transporte y almacenamiento se debe hacer a temperaturas de 4-10 °C (Amiot, 1991).

La norma COGUANOR NGO 34 197 indica que el queso fresco debe tener una humedad máxima del 70 % y un porcentaje de grasa láctea no menor a 1.23 % (CRETEC, 1975). Debido a que este producto posee una alta humedad, se ve favorecido el crecimiento de microorganismos (Plank, 2005), por lo que se deben cumplir con los criterios microbiológicos establecidos por el Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:17, los cuales se presentan en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Características microbiológicas de los quesos frescos

Parámetros	Número de muestras a analizar	m	M
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	10 ² UFC/g	10 ³ UFC/g
<i>Salmonella</i> spp.	5	Ausencia/25 g	0
<i>Escherichia coli</i>	5	10 UFC/g	10 ² UFC/g
<i>Listeria monocytogenes</i>	5	Ausencia/25 g	0

Según el Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP, 2012), el 69 % de la población guatemalteca incluía el queso dentro de su plan de alimentación.

Los quesos frescos son considerados microbiológicamente inseguros debido a la presencia de patógenos ya sea en la materia prima, leche cruda o a la contaminación durante la fabricación de este. La elaboración del queso fresco artesanal puede hacerse a partir de leche cruda sin ningún tratamiento previo, estando el número de microorganismos presentes en esta sujeta a factores como: la alimentación de los animales, el saneamiento general en la planta de fabricación, la calidad del agua para lavar los utensilios, las condiciones de manipulación, la temperatura y el tiempo de almacenamiento del queso (Merchán et al., 2018).

C. Proceso de elaboración del queso fresco

1. Insumos

a) Leche

La leche es la principal materia prima que se utiliza en la elaboración del queso fresco. Esta leche tiene que ser pasteurizada, libre de calostro, conservantes, adulterantes y neutralizantes. La calidad de la leche puede partir de dos grandes referentes: el composicional y lo higiénico. La calidad composicional hace referencia a la cantidad de

sólidos totales, grasa y proteína que contiene esta, mientras que la calidad higiénica hace referencia a la cantidad de bacterias que esta posee en unidades formadoras de colonia, es decir, UFC por mililitro de leche (Moreno, 2022).

b) Cuajo

El cuajo contiene dos enzimas, quimosina y pepsina, siendo la quimosina la más activa durante la coagulación. Sin embargo, ambas enzimas intervienen en la proteólisis que ocurre en la maduración del queso, dependiendo de la proporción del cuajo que quede retenido en la cuajada (Battro, 2010; García, 1998).

El cuajo tiene como función separar el agua de la leche, llamado suero, de la cuajada. La quimosina actúa directamente sobre la caseína, rompiéndola y permitiendo que se dé la formación de un gel que atrapa la mayor parte de los componentes sólidos que contiene la leche, el cual se va contrayendo, por lo que expulsa el suero poco a poco. Al cortar la cuajada en cubos, se espera poder separar entre 50-90% del contenido inicial de agua de la leche (Álvarez, 2011).

c) Fermentos lácticos (opcional)

Durante la pasteurización se pierden las bacterias ácido lácticas que posee la leche de forma natural, por lo que usualmente se recurre al uso de fermentos lácticos. La leche debe contener los fermentos lácticos necesarios para asegurar la acidificación. Estos fermentos están constituidos principalmente por *Streptococcus lactis* y *Streptococcus cremoris*, las cuales son fermentadoras de lactosa. Estas se añaden en 500 mL/100 litros de leche y se dejan actuar por un período de maduración de 5-10 minutos. Luego de que el fermento láctico ha madurado adecuadamente la leche, se agrega el cuajo y se agita por 3 minutos (González, 2002).

d) Sal común

El salado de alimentos es una técnica que se utiliza para la preservación de estos. Los niveles de sal en queso van aproximadamente de 0.6 % hasta 7 %, variando este rango dependiendo del tipo de queso que se esté elaborando. Hacer uso de valores de sal menores a los que se establecen puede producir defectos en el queso debido al crecimiento de bacterias no deseables y/o patógenas o a la actividad enzimática no regulada, al igual que se observan cambios en la reología del queso, ya que presenta disminución en su firmeza (Ramírez et al., 2017).

La sal aumenta la presión osmótica en la fase acuosa de los alimentos, causando deshidratación en las bacterias, previniendo así su proliferación y crecimiento. Junto con el pH, la actividad de agua y el potencial redox, contribuye a la disminución de deterioro y prevención de crecimiento de patógenos. La sal permite controlar la textura, la sinéresis y la humedad, además de contribuir a las características del sabor. Para algunos tipos de queso, el salado crea una corteza dura que lo protege durante la maduración y el transporte (Ramírez et al., 2017; Villamil, Cobos y Novoa, 2015).

e) Cloruro de calcio

Una vez pasteurizada la leche, el calcio que posee la leche ya no queda disponible para actuar durante la coagulación. De igual forma, el calcio se ve afectado de forma negativa con enfriamientos prolongados o alteraciones en la leche. Por estas razones, es necesaria la adición de cloruro de calcio, siendo la dosis recomendada 10 gramos/100 litros. Los efectos de un buen balance en calcio son la disminución del tiempo de coagulación, mejora en la salida del suero de la cuajada, retención de grasa y compuestos de la leche. Se recomienda añadirlo 20 minutos antes de la coagulación (Pardo, 2005; Battro, 2010).

2. Proceso de elaboración

a) Recepción de leche

La leche utilizada en la elaboración del queso debe ser de buena calidad, tanto desde el punto de vista fisicoquímico como microbiológico. Por esto mismo, deben realizarse análisis para asegurar que esta posea las características ideales para la fabricación del queso. Uno de los parámetros importantes a medir previo a la elaboración del queso es la acidez titulable, la cual debe estar entre 0.12-0.18 % de ácido láctico debido al contenido anhídrido carbónico, proteínas y algunos iones como el fosfato. La leche no contiene ácido láctico, pero este se forma por acción bacteriana, convirtiendo la lactosa en ácido láctico por medio de la fermentación; por esto mismo, la acidez titulable permite identificar la calidad sanitaria de la leche (Moreno, 2022; Álvarez, 2011).

Otra prueba importante que se debe realizar en esta etapa es la prueba de alcohol, pues esta permite detectar la termoestabilidad de la leche cruda. Cuando la muestra es inestable se da la coagulación de la leche, por lo que no es apta para la elaboración de queso. La concentración de etanol que puede utilizarse para estas pruebas es de 68 % v/v o 78 % v/v (Molina et al., 2001).

Finalmente, la densidad de la leche es un parámetro que debe tomarse en cuenta para evaluar su calidad, pues este valor permite detectar adulteraciones. La densidad representa la presencia de varios componentes de la leche diluidos o no, en el agua que constituye la leche. La densidad de la leche suele tener valores entre 1.027 a 1.033 g/mL (González et al., 2010).

b) Filtración

Luego de las pruebas de calidad, se realiza una filtración de la leche para eliminar impurezas que puedan estar presentes en esta que pueden causar defectos y contaminación del producto (Pardo, 2005).

Esta filtración puede hacerse por membrana, permitiendo así la eliminación de componentes que no son deseables, como sedimentos o microorganismos. Además, la filtración permite mejorar la textura y aumenta la durabilidad del producto final (Gastalver, 2013).

c) Estandarización

La estandarización de la leche tiene como función lograr que el queso a elaborar cumpla con el contenido de grasa y de sólidos no grasos del producto final establecidos por las normas nacionales e internacionales (Del Cid, 2017; García, 2005).

Este proceso permite adecuar la composición de la leche para tener una relación constante entre materia grasa y materia seca del producto terminado. La estandarización ayuda a hacer un uso más racional de los componentes de la leche teniendo en cuenta el rendimiento económico y la aceptación del consumidor con respecto al contenido de agua, grasa, proteína, cuerpo o textura, aroma y sabor del queso (Del Cid, 2017).

d) Pasteurización

La pasteurización es un proceso térmico que permite reducir la cantidad de los microorganismos del deterioro y patógenos que se encuentran en la leche sin afectar de forma significativa las propiedades físicas y químicas (Ruíz et al., 2018).

Este proceso térmico puede realizarse a 65 °C por treinta minutos. La pasteurización ayuda a eliminar sólo ciertos microorganismos, pero no aquellos que son más termorresistentes, por lo que solamente reduce la población microbiana, como se estableció con anterioridad (Montoya, 2008; Pardo, 2005).

El tiempo y la temperatura de este proceso térmico debe mantenerse controlado, pues de lo contrario se puede dar la desnaturalización de proteínas ya que esto produce cambios físicos en estas, aunque no afectan la composición de aminoácidos. Sin embargo, si se calienta por encima de los 100 °C, se puede disminuir el pH de la leche debido a la formación de ácidos orgánicos por la degradación de lactosa y la precipitación de fosfato de calcio. La desnaturalización trae consigo ciertas desventajas en la industria quesera, pues afecta la aptitud de la leche para coagular, por lo que aumenta el tiempo de coagulación y se produce un desuerado más lento (Valbuena et al., 2004; Mejía, Rodas y Baño, 2017).

Un control indirecto para saber si se realizó una pasteurización adecuada es la prueba de la fosfatasa, ayudando a definir si la temperatura de pasteurización fue la correcta o no ya que la enzima fosfatasa alcalina es completamente inactivada con el tratamiento adecuado de la leche (Revilla, 1996). La enzima fosfatasa alcalina se inactiva por arriba de 60 °C; esta enzima tiene una resistencia al calor ligeramente superior a las demás bacterias patógenas que pueden existir en la leche por lo que, si esta se destruye, también son destruidos los demás microorganismos. La prueba clásica de fosfatasa consiste en determinar de forma colorimétrica el fenol que se libera del fenilfosfato disódico (Alais, 2022; González, 2013).

e) Enfriado

La etapa de enfriamiento permite realizar un acondicionamiento de la leche que permite mejorar la actividad y formación del cuajo, además de mejorar el rendimiento (Del

Cid, 2017). De igual forma, en esta etapa del enfriamiento se debe agregar al cloruro de calcio para así poder mejorar, de igual forma, el rendimiento de la cuajada (Moreno, 2022).

f) Coagulado

La coagulación es un proceso fundamental para la fabricación del queso, pues se da la coagulación de la caseína presente en la leche como consecuencia de la desestabilización proteica, la cual se puede llevar a cabo por la acción de proteinasas ácidas como la quimosina o por la acidificación a un valor de pH cercano al del punto isoeléctrico de las proteínas (Del Cid, 2017). Los ácidos que se pueden utilizar para la acidificación son ácidos orgánicos débiles como el ácido cítrico, láctico o acético (Bedolla et al., 2016).

La coagulación enzimática permite que la quimosina hidrolice caseína, formando paracaseína, proteasa soluble y suero; luego de esto, la paracaseína reacciona con los iones de calcio, formando un gel irreversible de consistencia elástica y gelatinosa. La velocidad de coagulación de la leche depende de la dosis del cuajo, temperatura, pH, acidez y contenido de sales de calcio (Bedolla et al., 2016). El cuajo tiene una eficiencia alta cuando la leche se encuentra en temperaturas entre 39-41 °C y se debe dejar reposar por 35-40 minutos (Moreno, 2022).

g) Cortado y agitación

El corte de la cuajada favorece la sinéresis. Durante el corte es importante impedir la ruptura del coágulo y la correspondiente pérdida de grasa. El tamaño del corte de la cuajada depende del tipo de queso y permitirá hacer un queso con más o menor humedad. Para los quesos frescos se deben cortar cubos de 1 a 2 cm de arista de la forma más homogénea posible para permitir una sinéresis más eficiente por el aumento de superficie (Álvarez, 2011). La agitación de la cuajada se debe realizar a temperaturas entre 38-40 °C para favorecer la sinéresis y la eliminación de suero (Moreno, 2022).

h) Desuerado

El desuerado consiste en separar el suero de la cuajada, el cual se puede realizar por filtración o decantación, eliminando así el 90 % del lactosuero. Se deben elaborar dos desuerados: el primero, en donde se remueve el 35-50 % del lactosuero, utilizando el suero restante para permitir la homogeneización de la sal añadida de manera directa, eliminándolo después del salado de la cuajada (Moreno, 2022).

i) Salado

El salado, aparte de proporcionar sabor al queso, evita la proliferación de microorganismos y contribuye a la formación de la corteza del queso (Ramírez y Vélez, 2012).

j) Moldeado

El moldeado tiene como finalidad dar forma al queso y ayudar a que los gránulos de la cuajada se aglomeren. Los moldes para este proceso pueden ser cilíndricos, cuadrados o alargados (Ramírez y Vélez, 2012).

k) Almacenado

La refrigeración ayuda a que el queso alcance el punto final en textura, el cual debe realizarse a temperaturas de 4-7 °C para impedir el crecimiento de microorganismos y, con ello, el deterioro de las características sensoriales. La durabilidad del queso depende de la eficiencia de la pasteurización llevada a cabo en la leche, el enfriamiento de esta y la manipulación de la cuajada durante el moldeado y el almacenamiento final (Álvarez, 2011).

D. Perfil nutricional del queso fresco

El queso fresco contiene nutrientes que también se encuentran presentes en la leche. De esta forma, brinda un aporte significativo de proteínas, grasas, vitaminas y minerales. Sin embargo, otros nutrientes como la lactosa y las proteínas del suero se pierden durante la producción de éste (López y López, 2021). En el Cuadro 3 se presenta la composición nutricional del queso fresco.

Cuadro 3. Composición nutricional del queso fresco

Parámetro	Valor
Humedad (%)	52.19
Grasa (%)	21.13
Materia grasa en extracto seco (%)	44.05
Proteína (%)	20.81
Carbohidratos (%)	2.47
Cenizas (%)	3.40
Calcio (mg/100g)	489.57
Hierro (mg/100g)	0.54
Calorías (Kcal/100g)	282.27

Fuente: Pulido, Pinzón y Tarazona (2018).

E. Fuentes de contaminación del queso fresco

El queso fresco es un medio rico en proteínas, grasa, minerales y carbohidratos, por lo que se considera como un alimento con las condiciones óptimas para que las bacterias y hongos crezcan y se desarrollen rápidamente a niveles en los que pueden infectar o causar enfermedades transmisibles por los alimentos. Las principales fuentes de contaminación de la leche cruda y por ende del queso son: las ubres del animal, los utensilios y el material de empaque (Trujillo, 2016).

1. Animal

La leche que se obtiene del animal, en su mayoría de la vaca, se puede ver contaminada cuando en la ubre de este se fijan las bacterias en el esfínter del pezón. Las principales bacterias que tienden a fijarse son *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. y coliformes. Otra forma por la que se puede contaminar la ubre es por medio de la sangre a través de los capilares mamarios, en dónde pueden introducirse *Salmonella* spp., *Brucellas* y *Mycrobacterium*. Asimismo, la leche se puede contaminar cuando la vaca tiene mastitis, la cual es una infección causada por diversos microorganismos, entre los cuales se puede mencionar a *Staphylococcus aureus* (Bobadilla, 2020).

2. Aire

La contaminación por aire puede darse por los cambios de temperatura, humedad y radiación solar. Entre los patógenos que se pueden encontrar en el aire se identifican *Micrococcus*, *Streptomyces* y *Aspergillus* (Bobadilla, 2020).

3. Agua

El abastecimiento de agua se da a través de corrientes, depósitos o estanques que pueden estar contaminados. Para el mantenimiento, la higiene del ganado y el aseo personal es imperativo el uso de agua, por lo que se debe asegurar que esta posea una buena calidad para prevenir contaminaciones por este medio (Bobadilla, 2020). En el agua se pueden tener restos de detergentes, desinfectantes y contaminación con residuos industriales (Rodríguez y Martínez, 2020).

4. Utensilios

Los utensilios pueden ser fuente de contaminación cruzada en los alimentos, tales como el equipo de ordeño, baldes, filtros, enfriadoras, etc. (Magariños, 2010). Estos pueden contener suciedades como restos de leche debido a una limpieza ineficiente, haciendo que estos puedan ser usados como una fuente para la reproducción de los microorganismos (Bobadilla, 2020).

5. Suelo

El suelo puede albergar varios microorganismos que pueden llegar a la leche por medio del aire, agua o transportándose a través de las manos, ropa y utensilios que se usen (Bobadilla, 2020). Entre los microorganismos que pueden encontrarse en el suelo y contaminar la leche se encuentran *Clostridium Botulinum*, *Clostridium parobotulinum*, *Salmonella* spp. y *E. coli* (Magariños, 2010). De igual forma, se debe tener precaución al manejar el producto cerca del suelo, pues este puede contener grumos de estiércol, pesticidas y/o materias extrañas (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, 1998).

6. Aseo personal

La higiene personal de los ordeñadores y vendedores de productos lácteos es importante para evitar una contaminación durante la manipulación del producto, ya que esta suele suceder por medio de contacto con la piel, fosas nasales, etc. Estos pueden contener patógenos como *S. aureus*, por lo que se recomienda que los trabajadores tengan una desinfección adecuada de manos y utensilios previo a la manufacturación del producto (Bobadilla, 2020).

7. Transporte

El transporte puede resultar como una fuente de contaminación si no transporta el producto lácteo a una temperatura óptima, pues afecta la actividad microbiana y puede ocasionar que los microorganismos proliferen, generando así la contaminación. Para evitar esto, es necesario contar con un transporte que tenga capacidad de contar con equipos de enfriamiento que puedan mantener una temperatura de 4 °C (Bobadilla, 2020).

F. Principales microorganismos encontrados en el queso fresco

El queso fresco artesanal es un producto lácteo elaborado artesanalmente asociado a la gastronomía de una región o país. La microbiota dominante en el queso fresco está constituida por una diversidad de bacterias ácido lácticas, mohos y levaduras. Los patógenos reportados con mayor frecuencia han sido *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*, entre otros (Merchán et al., 2018).

1. *Escherichia coli*

La mayoría de las cepas de *E. coli* tienden a encontrarse en el tracto intestinal humano y animal, regulando la actividad intestinal. Sin embargo, la cepa *E. coli* O157:H7 puede causar enfermedades gastrointestinales como diarrea hemorrágica (Gaibor, 2018). Este patógeno generalmente se transmite a través de las heces y alimentos como la carne y leche, especialmente de ganado bovino (Sancak et al., 2015).

En los Estados Unidos se estima que las infecciones por queso fresco con *E. coli* O157:H7 son responsables de por lo menos 20,000 casos de enfermedad y 250 muertes por año. En países como Perú, se reporta la presencia de *E. coli* con prevalencias de 2.1 % y 28.1 % en los quesos frescos (Merchán et al., 2018).

2. *Salmonella* spp.

Salmonella es una bacteria que puede colonizar el tracto intestinal de los organismos vertebrados, incluyendo humanos y animales, aunque también puede habitar en sedimentos de agua estancada. Las fuentes más comunes de transmisión de salmonelosis son carne de pollo, huevos, frutas, vegetales, productos lácteos y mariscos (Gaibor, 2018).

Salmonella entérica es uno de los principales patógenos transmitidos por alimentos. Se ha reportado que la prevalencia de *Salmonella* spp. en la leche y sus derivados no pasteurizados se atribuye principalmente a la contaminación por manos del ordeñador, las heces de animales, la contaminación del equipo utilizado para el ordeño y las aguas contaminadas (Merchán et al., 2018). Cada año se registran aproximadamente 42,000 casos de salmonelosis en Estados Unidos (Gaibor, 2018). De igual forma, en Estados Unidos, la presencia de *Salmonella* spp. es del 2.4 % en las muestras de queso fresco (Gonzáles et al., 2017).

3. *Listeria monocytogenes*

Las especies de *Listeria* están extendidas en el medio ambiente; se han aislado del suelo, materia vegetal en putrefacción, aguas residuales, comida animal, pollo fresco y congelado, queso, leche no procesada, así como en el tracto digestivo de humanos y animales asintomáticos. No obstante, su principal hábitat es el suelo y la materia vegetal (Oteo y Alós, 2001).

La contaminación por *Listeria monocytogenes* en la leche cruda y en el queso fresco pueden ocurrir por las heces del ganado y por la contaminación inmediata con enfermedades como listeriosis y mastitis. Reportes en Ecuador y Venezuela demuestran prevalencias de 52.94 % y 15 % de *Listeria* spp. en el queso fresco. En Estados Unidos en 2017 se analizaron 27,389 muestras, de las cuales 116 fueron positivas para *Listeria monocytogenes* (Merchán et al., 2018).

4. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus forma parte de la microbiota de la piel y mucosas, en especial la nasal, encontrándose entre el 20-30% de personas. La presencia de este microorganismo representa un problema latente, por lo que se utiliza como microorganismo indicador, y la presencia de este se relaciona directamente con la mala manipulación por parte de las personas que están en contacto con el producto en el proceso de la cadena productiva (Torres y Pacheco, 2021).

Este microorganismo puede encontrarse, de igual forma, en la ubre de la vaca. El pH ácido, alta actividad de agua y la concentración de cloruro de sodio favorece el crecimiento de *S. aureus* en el queso fresco. Varios reportes demuestran la alta prevalencia de este patógeno en países de América Latina: México determinó prevalencias de 5.76 % de *Staphylococcus aureus* en 12 muestras de queso fresco. En Estados Unidos se analizaron 33 muestras de queso fresco, identificando a *S. aureus* en el 42% de estas (Merchán et al., 2018).

G. Probióticos

Los probióticos se definen como microorganismos vivos que, tras su ingestión en cierta cantidad, pueden generar efectos beneficiosos al huésped más allá de los inherentes a la nutrición básica. Las especies más utilizadas pertenecen al grupo de bacterias ácido lácticas y a las bifidobacterias (Rodríguez, 2008).

Debido a que los probióticos colonizan de manera adecuada el intestino del huésped, se contrarresta la proliferación de microorganismos patógenos, contribuyendo así a estimular el sistema inmune (Mosquera et al., 2019).

H. Bacterias ácido lácticas

1. Características generales

Las bacterias ácido lácticas (BAL) están presentes en la alimentación del hombre desde hace mucho tiempo y pueden ser encontradas en distintos productos como quesos frescos y yogures. Estas bacterias se han reconocido como microorganismos beneficiosos para la salud, pues mejoran el tracto intestinal de los seres humanos, evitando el desarrollo de microorganismos patógenos capaces de producir enfermedades a través de la estimulación del sistema inmunológico (Martín del Campo, Gómez y Alaníz, 2008).

Con la denominación de bacterias ácido lácticas se generaliza a un grupo de bacterias que fermentan azúcares como glucosa y lactosa para la producción de ácido láctico. Dentro de este grupo se reconoce la existencia de microorganismos aerobios, anaerobios y anaerobios facultativos. Los géneros representativos de este tipo de bacterias son: *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* y *Pediococcus* (Del Castillo y Mestres, 2004; Martín del Campo, Gómez y Alaníz, 2008).

Este tipo de bacterias producen el ácido láctico como principal metabolito durante la fermentación, además de que son considerados microorganismos nutricionalmente exigentes. Son capaces de hidrolizar péptidos de la leche. Además de producir el ácido láctico, estas bacterias también contribuyen al sabor, aroma, textura y valor nutricional de alimentos fermentados a través de la producción de exopolisacáridos y modificación de proteínas debido a su actividad metabólica sobre las proteínas, azúcares y lípidos, haciendo que estos sean más digeribles (Parra, 2010).

Las BAL se han utilizado desde hace algunas décadas en la industria de alimentos como bioconservadores debido a la producción de sustancias que tienen una acción antibacteriana, lo que contribuye a la prevención de descomposición de los alimentos y evitan el desarrollo de microorganismos patógenos. Estas bacterias son termorresistentes, activas en pH bajo, inocuas para los consumidores y estables en los alimentos (Martín del Campo, Gómez y Alaníz, 2008).

2. Efectos inhibitorios de las bacterias ácido lácticas

Las bacterias ácido lácticas presentan gran potencial biotecnológico debido a que son capaces de producir metabolitos con actividad antimicrobiana que exhiben mecanismos inespecíficos (diacetilo, ácidos orgánicos y peróxido de hidrógeno) o específicos como lo son las bacteriocinas. Las bacteriocinas son moléculas antimicrobianas de naturaleza peptídica que pueden funcionar como una estrategia competitiva contra otros microorganismos (Parada et al., 2018).

A causa de la producción de las sustancias anteriormente mencionadas, las bacterias ácido lácticas han sido utilizadas como bioconservantes ya que contribuyen favorablemente en la preservación de alimentos por su capacidad para inhibir el desarrollo de microorganismos patógenos o del deterioro, además de reducir el uso de conservantes químicos y suavizar los tratamientos a los que se someten los alimentos procesados (Colugna 2019; Agudelo et al., 2015).

Uno de los efectos antagónicos que tienen las BAL es la competencia con los patógenos, tanto por nutrientes como por espacio físico. Algunas de estas bacterias pueden inhibir la adherencia de los microorganismos patógenos a los sitios receptores de la célula animal por medio de un mecanismo de bloqueo específico del receptor, inhibiendo así por competitividad (Cartes, 2005).

La capacidad de producir ácidos orgánicos por la fermentación de los carbohidratos presentes y la consecuente disminución de pH es otro de los principales factores en los que se basa la actividad antimicrobiana de las bacterias ácido lácticas. Sin embargo, su sistema antagonista no se limita solo a la producción de ácidos, sino que también participan activamente otros metabolitos inhibitorios como el peróxido de hidrógeno y otros derivados del oxígeno, dióxido de carbono, compuestos aromáticos como el diacetilo y acetaldehído, derivados de deshidratados del glicerol, benzoato, enzimas bacteriolíticas y antibióticos (Wong et al., 2021).

Debido a que diversos estudios han demostrado la eficiencia de la biopreservación de productos alimenticios mediante la utilización de bacteriocinas producidas por los probióticos y a que estas tienen efectos significativos sobre el crecimiento de *E. coli* y *Salmonella* spp., en este estudio se evaluaron siete cepas probióticas para identificar las tres que presentaran una mayor actividad antagónica ante los patógenos mencionados anteriormente, seleccionando al final las cepas probióticas de *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042, *Limosilactobacillus fermentum* ATCC 9338 y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435.

3. *Pediococcus acidilactici*

Las bacterias del género *Pediococcus* tienen forma de cocos y son anaerobias Gram positivas, no móviles, no esporuladas, catalasa negativa y facultativas. *Pediococcus pentosaceus* y *Pediococcus acidilactici* son las principales especies utilizadas en suplementos probióticos para animales y humanos, así como en la producción de

bacteriocinas e inóculo de procesos fermentativos para evitar contaminaciones (García et al., 2017).

Pediococcus acidilactici ATCC 8042 es una bacteria ácido-láctica utilizada en la bioconservación de alimentos, pues posee actividad proteolítica extracelular (Llorente, Pérez y Farrés, 2008). Esta bacteria probiótica produce una bacteriocina denominada pediocina, la cual es utilizada en productos vegetales y cárnicos y ha demostrado una actividad alta contra especies de *Listeria* (González, Gómez y Jiménez, 2003). Además, se ha demostrado que este probiótico es capaz de producir dos proteínas con actividad lítica, una de 110 kDA y otra de 99 kDA, las cuales también exhiben actividad antimicrobiana. La proteína de masa molecular 99 kDA se ha identificado como una *N*-acetilmuramidasa, una peptidoglicano hidrolasa que cataboliza los enlaces glicosídicos y de péptidos que se encuentran dentro de los peptidoglicanos, los cuales son los componentes principales de la pared celular, por lo que promueve la lisis de la célula (García-Cano et al., 2015).

Asimismo, se ha demostrado que es efectivo ante los patógenos por la competición de nutrientes y por la producción de ácido láctico, lo que puede acidificar el medio, inhibiendo así el crecimiento de estas bacterias, de igual manera, produce peróxido de hidrógeno, lo que contribuye a su actividad antimicrobiana (Kho et al., 2024).

Se ha descubierto que *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 también es efectivo para inhibir los biofilms producidos por *Salmonella typhimurium*, pues se ha reducido la formación de este hasta en un 55 %; de igual manera, reduce la densidad del biofilm, tanto en superficies de acero inoxidable como en productos alimenticios, como en carne de pollo (Seo y Kang, 2020).

En un estudio elaborado por Shapwa (2022), se estudió el efecto antimicrobiano de este probiótico contra *S. typhimurium*, en dónde se pudo apreciar que se tuvo una reducción de 1.2 log UFC/g de este patógeno en muestras de cárnicos. La disminución de este patógeno puede atribuirse al estrés por subproductos de la reacción de Maillard, los cuales se pudieron formar durante la pasteurización; se ha demostrado que esta especie de *Salmonella* puede ser inhibida por estos compuestos ya que secuestran metales en medios líquidos (Hosseini et al., 2024). Esto también concuerda con lo presentado por otros estudios, ya que se ha demostrado que *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 presenta alta actividad antimicrobiana ante bacterias como *S. typhimurium*, *S. aureus* y *S. pyogenes* (Won Cho et al., 2019).

4. *Lactobacillus casei*

Los microorganismos del género *Lactobacillus* son bacilos pleomorfos que se disponen en cadenas largas con formas cocobacilares y espiraladas, pertenecientes a la familia *Lacto* (Forbes, Sahm y Weissfeld, 2009).

Las bacterias del género *Lactobacillus* pertenecen a las bacterias ácido lácticas y son Gram positivas (Drider y Rivera, 2016). También son bacterias no esporuladas, microaerófilas, mejorando su crecimiento en anaerobiosis. Su temperatura óptima de

crecimiento se encuentra entre 30-40 °C, mientras que el pH adecuado para su desarrollo está entre 5.5-6.2 (Álvarez, 2011).

El género *Lactobacillus* se encuentra distribuido a través del tracto intestinal. Su distribución es afectada por factores medio ambientales, tales como pH, disponibilidad de oxígeno, niveles de sustratos específicos y la presencia de interacciones bacterianas (Álvarez, 2011).

Lactobacillus casei son bacterias con forma de bastón consideradas mesófilas heterofermentadoras facultativas, las cuales producen ácido láctico como principal producto final de la fermentación y no producen gas en presencia de glucosa. En condiciones limitadas de glucosa, producen tres productos: ácido acético, etanol y ácido fórmico. Esta cepa probiótica se ha comprobado que es resistente a rangos amplios de pH y temperatura; además, en el huésped contribuye a mejorar la digestión, favorece la tolerancia a la leche y ayuda a prevenir enfermedades intestinales (Álvarez, 2011; Rodríguez, 2009).

Estas bacterias también producen ácido láctico, el cual se acumula en el medio y produce que el pH del medio disminuya. Cuando la concentración de ácido láctico aumenta a 16 g/l, el pH decrece a 4, provocando que el crecimiento microbiano acabe debido a la alta concentración de ácido (Álvarez, 2011).

5. *Limosilactobacillus fermentum*

Limosilactobacillus fermentum, antes conocida como *Lactobacillus fermentum*, es un bacteria ácido-láctica perteneciente a la familia *Lactobacillaceae*, heterofermentativa estricta. Esta familia es de bacterias Gram positivas en forma de bacilos, cuyos géneros principales son *Lactobacillus*, *Listeria* y *Erysipelothrix* (Bennington, 2000). Esta oxida la glucosa y como producto final produce una mezcla equimolar de ácido láctico, dióxido de carbono y etanol o acetato (Osorio, 2018).

Esta bacteria ácido-láctica es la principal especie de *Lactobacillus* heterofermentativa del intestino humano. De igual forma, se encuentra en los productos lácteos fermentados, plantas y materia animal. Su temperatura óptima de crecimiento es a los 37 °C y su pH óptimo es de 6.5; las colonias que estas forman son pequeñas, enteras, convexas, blancas grisáceas y son catalasa negativas (Osorio, 2018).

Lactobacillus fermentum es tolerante al ácido gástrico y la bilis, por lo que sobrevive en el estómago y tracto intestinal de los animales y humanos, lo cual es uno de los requisitos para la funcionalidad de un probiótico; también se ha demostrado que tiene actividad antimicrobiana contra varios patógenos gastrointestinales, tales como *E. coli*, *Salmonella entérica*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella typhimurium* (Osorio, 2018).

Las especies de *Lactobacillus fermentum* se utilizan para una amplia variedad de aplicaciones, incluyendo la fermentación de alimentos y piensos. Asimismo, esta se ha utilizado como agente farmacológico (Vanilssen, Nilstrem y Kuslovic, 2020).

Lactobacillus fermentum ATCC 9338 es un microorganismo reconocido por sus propiedades antagónicas y por la producción de péptidos antimicrobianos, como las fermenticinas, las cuales han sido evaluadas para ser utilizadas en la preservación de alimentos (Naghmouchi et al., 2019). Además, produce peróxido de hidrógeno, ácido láctico y el péptido NQGPLGNAHR, el cual ha mostrado actividad anti-adhesiva y bactericida contra patógenos como *Staphylococcus aureus* (Wei et al., 2025). Asimismo, se ha demostrado que *Lactobacillus fermentum* aumenta la permeabilidad de la membrana de bacterias Gram-negativas, lo que reduce su viabilidad e incrementa su exposición a compuestos antimicrobianos (Naghmouchi et al., 2019).

Este probiótico también produce la enzima β -galactosidasa, la cual actúa hidrolizando la lactosa en glucosa y galactosa (Badui, 2020); por otro lado, la fosfatasa ácida hidroliza las fosfoproteínas, incluyendo la caseína, provocando así la desfosforilación de estas (Shaikh, Kumar y Parmar, 2023). Esta actividad enzimática produce pequeños péptidos y aminoácidos libres, lo que produce una textura más blanda e impacta el sabor de los quesos durante el proceso de maduración (Buffa, 2003).

De igual manera, produce surfactantes en la fase estacionaria, lo que interviene en la adhesión de patógenos y la formación de biofilm (de Souza et al., 2020). La producción de estos metabolitos puede crear un ambiente hostil para los patógenos presentes, pues altera las membranas celulares de estos microorganismos (Kosisochukwu, Miri y Onyeaka, 2024). Finalmente, entre las enzimas que produce *Lactobacillus fermentum* se encuentran las peptidoglucano hidrolasas, las cuales catabolizan la pared celular de los microorganismos (García, 2018).

Se ha reportado que este probiótico puede reducir 3.26 log UFC/g de *Salmonella typhimurium* in vitro (Abramov et al., 2022). De igual manera, se ha determinado que la capacidad de inhibición de esta cepa aumenta cuando se le agregan agentes quelantes, como EDTA (Huang et al., 2021).

6. *Lactobacillus paracasei*

El grupo de bacterias *Lactobacillus paracasei* pertenece al grupo *Lactobacillus casei*, el cual también contiene la cepa *Lactobacillus rhamnosus*, los cuales se encuentran en el tracto intestinal humano. Además, este probiótico ha sido aislado de forma natural de diversos alimentos, incluyendo productos lácteos crudos y fermentados. Algunas cepas de *Lactobacillus paracasei* tienen propiedades probióticas, por lo que son utilizadas en alimentos funcionales y saludables (Sunthornthummas et al., 2017). Este grupo de bacterias es comúnmente utilizado en la producción de yogurt, queso, leche fermentada y helado (Fioravante et al., 2018).

También se ha establecido que *Lactobacillus paracasei* podría encontrarse en masas madre, vinos, vegetales fermentados y kimchi. La especie *Lactobacillus paracasei* es utilizada como adjunto de cultivo iniciador en el proceso de fermentación de leche, ya que acelera e intensifica el desarrollo de sabores (Reale et al., 2014).

7. *Lactococcus lactis*

Lactococcus lactis son bacterias Gram positivas homofermentativas y microaerofilicas, las cuáles crecen a una temperatura de 10 °C; no crecen a temperaturas de 45 °C y producen ácido láctico L (+) de la glucosa (Samaržija, Antunac y Lukac, 2001). Este grupo de bacterias es importante debido a que utilizan la secreción de ácido láctico para realizar la fermentación de los carbohidratos, lo que contribuye a la extensión de la vida útil y a la reducción del contenido de lactosa; adicionalmente, puede producir nisina, por lo que exhibe actividad antibacteriana (Khemariya et al., 2017). Estas bacterias ácido lácticas son las más utilizadas en la fabricación de productos lácteos debido a su rápida fermentación de lactosa y citrato, además de que contribuyen significativamente a la producción de compuestos aromáticos (Gutiérrez et al., 2010).

Este grupo de bacterias posee una forma distinta de metabolizar la glucosa, debido a que simultáneamente cataboliza glucosa y galactosa. Además, pueden realizar la hidrólisis de caseína (Samaržija, Antunac y Lukac, 2001). Debido a estas características, son utilizadas en una amplia gama de productos, además de los lácteos, tales como carnes fermentadas, vegetales fermentados, masas ácidas y bebidas (Khemariya et al., 2016). Asimismo, estas pueden ser encontradas en kéfir, bebidas de soya, crema, mantequilla, queso crema y salchichas (Khemariya et al., 2017).

Se ha identificado que *Lactococcus lactis* tiene efectos beneficiosos a la salud del consumidor, tales como la supresión de la colonización de patógenos, reducción de infecciones gastrointestinales, control del colesterol, mejoramiento de la digestión de lactosa e incrementar la biodisponibilidad de minerales (Khemariya et al., 2017). De igual forma, estas bacterias ácido lácticas también producen varios compuestos bioactivos, tales como exopolisacáridos, ácidos orgánicos, péptidos bioactivos, vitaminas y enzimas (Kondrotiene et al., 2024).

Dentro de la especie de *Lactococcus lactis*, se encuentra *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, la cual se caracteriza por su rápida acidificación del medio y es utilizada en la producción de queso y mantequilla debido a los atributos especiales que contribuyen al aroma, lo que mejora la calidad de los productos lácteos fermentados (Madera et al., 2003; Li et al., 2020).

Los aislados de esta subespecie que son utilizados como cultivos iniciadores en la producción comercial presentan diversas características dependientes de cada cepa, como la capacidad de fermentar lactosa, la actividad proteolítica, la producción de exopolisacáridos (EPS) y la generación de compuestos aromáticos. Además, desempeñan un papel esencial en la formación del aroma, la textura y la acidez de los productos finales (Li et al., 2020).

Estudios han demostrado que *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* es capaz de controlar un número significativo de bacterias no deseadas en productos lácteos y cárnicos; su uso como cultivo protector, así como su bacteriocina que actúa como un agente antimicrobiano puede prevenir el crecimiento de patógenos presentes en los alimentos (Akbar et al., 2019). Este probiótico puede producir dos bacteriocinas: nisina y lacticina 3147 (Prince et al., 2016).

Lactococcus lactis subsp. *lactis* ATCC 19435 también es un probiótico capaz de producir otros subproductos, tales como ácido láctico y ácido acético (Yu et al., 2024). Asimismo, genera compuestos que contribuyen a las cualidades organolépticas del producto final y a extender la vida útil del alimento (Kondrotiene et al., 2024).

Este probiótico también produce sustancias antioxidantes como exopolisacáridos, flavonoides, carotenoides y superóxido dismutasa, enzima que reduce el estrés oxidativo (Hamdaoui et al., 2024). De igual manera, debido a que *L. lactis* subsp. *lactis* es homofermentativa, su principal subproducto principal es el ácido láctico (Frece et al., 2014). Asimismo, este probiótico produce peróxido de hidrógeno que puede acumularse en el medio, lo que destruye los componentes celulares bajo condiciones aeróbicas (van Niel, Hofvendahl y Hanh, 2002).

A pesar de que las dos bacteriocinas que produce este probiótico no son efectivas ante las bacterias Gram negativas, este actúa contra este tipo de bacterias a través de la inhibición de la motilidad de estas debido a la reducción del pH intracelular; de igual manera, el acetato, el cual es un subproducto de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, ayuda a la reducción de la población de *Salmonella* spp. debido a que permea la membrana citoplasmática, transfiriendo protones al citoplasma. Cuando el pH extracelular disminuye en presencia del acetato, el pH intracelular también baja para mantener el equilibrio (Nakamura, Morimoto y Kudo, 2015). Asimismo, se ha demostrado que este probiótico consume el oxígeno disponible en el medio, por lo que hace que sea un ambiente hostil para el patógeno, además de que esta cepa compite por nutrientes (Zhang et al., 2024).

De igual manera, se ha determinado que este probiótico cuenta con enzimas como lipasas, esterases y peptidasas; la enzima proteolítica que contiene *Lactococcus* puede hidrolizar caseínas y péptidos, transformándolos posteriormente en aldehídos, alcoholes e hidroxiácidos, los cuales son compuestos aromáticos o precursores del aroma. También se ha demostrado que *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* posee la enzima arginina dihidrolasa, lo que convierte la arginina, después de diversos procesos hidrolíticos, en putrescina, la cual aumenta el pH (Kondrotiene et al., 2023; Tille, 2013).

Se ha reportado que, al aplicar *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* en alimentos, se puede llegar a inhibir *Salmonella typhimurium* entre 60-80 horas cuando estos cuentan con una carga inicial de aproximadamente 5 log UFC/g de este patógeno (Bragason et al., 2020). Un factor que afecta el efecto inhibitorio de los probióticos es la concentración baja de los subproductos de la fermentación, como la cantidad de ácido láctico (Rivera de la Cruz et al., 2017).

8. *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus acidophilus pertenecen al grupo de *Lactobacillus*; son estrictamente homofermentativas y presentan crecimiento a temperaturas de 30-45 °C y a pH entre 4 y 5 (Anjum et al., 2014).

Estas bacterias son capaces de producir ácidos orgánicos, peróxidos de hidrógeno, diacetilo, amoníaco y bacteriocinas. También, se ha encontrado que estas bacterias son resistentes a la bilis y se adhieren al tracto intestinal del huésped. Su actividad metabólica ayuda a producir sabor y aroma, además de prevenir la descomposición del alimento por los subproductos que produce, ya que estos poseen actividad antimicrobiana. *Lactobacillus acidophilus* se inocula usualmente en leche, yogurt, kéfir, bebidas de soya, vegetales fermentados y bebidas de frutas. Se ha establecido que los beneficios que provee este grupo de bacterias son el tratamiento de enfermedades gastrointestinales, competitividad ante microorganismos patógenos, reducción en la biosíntesis de colesterol, predigestión de lactosa y actividad antibacteriana ante diversos tipos de mohos (Selle, Klaenhammer y Russell, 2014).

9. *Lactiplantibacillus plantarum*

Lactiplantibacillus plantarum, antes conocida como *Lactobacillus plantarum*, es una de las especies Gram positivas de bacterias ácido lácticas; es un microorganismo que tiene una alta adaptabilidad ecológica y metabólica que existe en un rango amplio de hábitats, incluyendo productos lácteos fermentados, masas ácidas, frutas, vegetales, cereales, carne y pescado. Este probiótico ha sido utilizado como un cultivo iniciador que mejora el sabor, textura y propiedades organolépticas de los alimentos (Yilmaz et al., 2022).

Esta cepa probiótica presenta actividad antagonista ante diversos patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli*, ya que secreta sustancias antimicrobianas como ácidos orgánicos (principalmente ácido láctico), peróxido de hidrógeno, metabolitos secundarios y bacteriocinas (Katiku, Matofari y Nduko, 2022).

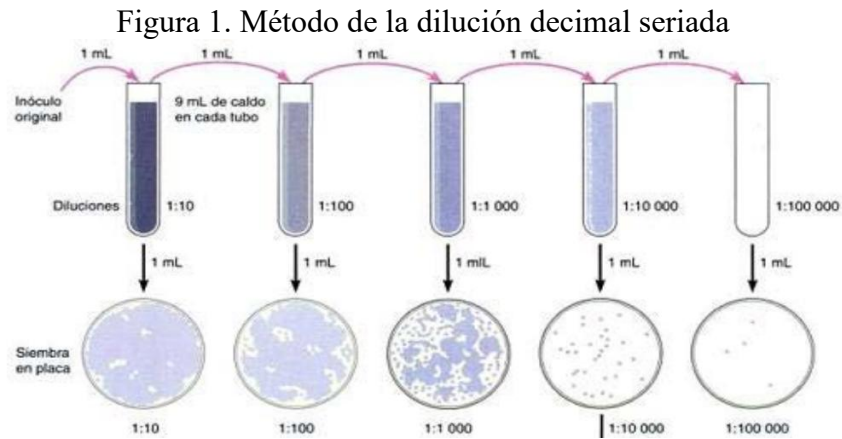
Lactiplantibacillus plantarum produce una bacteriocina llamada plantaricina, la cual pertenece a la clase I (lantibiótica) y clase II (no lantibiótica). A pesar de que es una bacteriocina con un amplio espectro de actividad, su rendimiento bajo limita su uso en la industria alimentaria. Además de la secreción de metabolitos antimicrobianos, su actividad antimicrobiana puede atribuirse también a la competencia por nutrientes (Yilmaz et al., 2022).

I. Método de dilución decimal seriada

Para conocer el número de bacterias en una muestra que contiene cientos de miles de microorganismos, es necesario diluirla para que las colonias formadas estén separadas unas de otras y se puedan contar con facilidad. Las diluciones que usualmente se utilizan son las decimales seriadas, las cuales son un método de dilución secuencial de las muestras

que contienen los microorganismos en agua de dilución que puede ser agua destilada, salina o peptonada (Santamaría, Comba y Pérez, 2014; Arana, Orruño y Barcina, 2011).

Los volúmenes que se manejan en las diluciones seriadas se basan en el litro, que es la medida de volumen del sistema métrico decimal. Cuando se preparan las diluciones a partir de la muestra original se debe trabajar cuidadosamente, ya que se pueden presentar problemas que se originan en la distribución desigual de las células en la muestra o por la contaminación del agua de dilución (Santamaría, Comba y Pérez, 2014).



Fuente: Arredondo, Aguilar y Noriega (2016).

J. Método de aislado mediante cultivo sólido

Al sembrar una muestra en un medio de cultivo, las bacterias existentes en esta comienzan a multiplicarse. Como la mayoría de las bacterias se duplican cada 20-30 minutos, entre las 18 y 24 horas se habrán desarrollado abundantemente. Los medios de cultivo deben contener los elementos nutricionales necesarios para permitir el crecimiento de las bacterias. Estos pueden clasificarse en medios líquidos y sólidos (Prats, 2007).

Los medios sólidos, los cuales generalmente son llamados agares, se obtienen agregando a un medio de cultivo líquido una sustancia gelificante como el agar (1.5-2 %), el cual se disuelve por ebullición. Al enfriarse, el medio líquido se convierte en sólido. Este medio se puede repartir en tubos de ensayo o cajas Petri (Prats, 2007; Negroni, 2018).

Para este estudio, el cultivo sólido que se utilizó para el aislamiento y recuento de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 fue el agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD), mientras que el cultivo sólido que se empleó para *Escherichia coli* fue el agar Chromocult®. El agar XLD está compuesto por las azúcares xilosa, lactosa y sacarosa, el aminoácido lisina y el indicador que es ácido sulfhídrico. En su mayoría, *Salmonella* spp. es capaz de fermentar la xilosa, pero es incapaz de fermentar la lactosa y sacarosa; además, esta es capaz de descarboxilar la lisina, produciendo el ácido sulfhídrico, dando como resultados colonias negras con centro rojo (Neyaz et al., 2024; Pedraza et al., 2014).

Por otro lado, el agar cromogénico *Chromocult*® es un medio simple que contiene dos sustratos cromogénicos, uno para la detección de coliformes totales y otro para *E. coli*; uno de los sustratos cromogénicos es 5-bromo-4-cloro-3-indoxil- β -D-galactosidasa (X-GLUC), el cual es 96% específico para *E. coli*. El otro sustrato es 6-cloro-3-indoxil- β -D-galactosidasa (Salmon-GAL). Debido a que *E. coli* presenta una reacción positiva a los dos sustratos, el color de las colonias en este agar puede variar del color azul oscuro a morado. Otras bacterias que son β -glucuronidasa positivas, pero β -galactosidasa negativa, como *Shigella*, *Salmonella* y *Yersinia*, producen colonias de color azul turquesa. Por último, bacterias Gram negativas que son β -glucuronidasa y β -galactosidasa negativas producen colonias claras (d'Angelis et al., 2018).

K. Antagonismo microbiano

En la biología, existe una interacción continua entre patógenos potenciales y sus antagonistas, de tal manera que estos últimos contribuyen a que en la mayoría de los casos no se desarrollen los patógenos. Se han descrito diversos mecanismos de acción antagonista para controlar el desarrollo de patógenos, los cuales son: antibiosis, competencia por espacio o nutrientes, interacciones directas con el patógeno, inducción de resistencia, producción de bacteriocinas y otros compuestos antagonistas como ácidos orgánicos y peróxido de hidrógeno (Cervantes, 2013).

Los microorganismos que poseen actividad antagónica microbiana deben ser genéticamente estables, tener una alta efectividad en bajas concentraciones, ser económicamente reproducibles, contener un rango amplio de control de patógenos, no tóxicos, con resistencia a pesticidas y compatibles con diferentes tratamientos físicos y químicos (Mateluna, 2006).

Uno de los mecanismos de acción antagonista que se tienen es la producción de bacteriocinas; estas son un grupo heterogéneo de proteínas o péptidos, sintetizados a través del ribosoma, que poseen una acción comprobada contra diversos microorganismos. Para que las bacteriocinas puedan ser utilizadas en la industria alimentaria, estas deben ser termorresistentes, ser producidas por una bacteria de grado alimentario, tener actividad inhibidora ante patógenos y no conllevar ningún riesgo para la salud del consumidor (Drider y Rivera, 2016).

La producción de bacteriocinas depende del crecimiento y actividad fisiológica de la cepa productora, estando relacionada la biomasa obtenida con la cantidad de bacteriocina producida (Aasen et al., 2000).

Las bacteriocinas se clasifican según sus características bioquímicas y genéticas:

- Clase I: péptidos pequeños, lantibióticos, activos a nivel de membrana, termolábiles, que contienen aminoácidos como la dihidroalanina y lantionina debido a las modificaciones postraduccionales (Kemperman et al., 2003).

- Clase Ia: péptidos elongados, catiónicos y son moléculas flexibles. Poseen una carga neta positiva. Ejemplos de este tipo de bacteriocina son la nisina y la lacticina 3147 (Mondragón et al., 2013).
- Clase Ib: péptidos de características globulares e hidrofóbicos que intervienen en reacciones enzimáticas esenciales en bacterias sensibles, inhibiéndolas. Pueden tener carga negativa. Un ejemplo de esta clase es la cinamisina (Deegan et al., 2006).
- Clase II: Péptidos pequeños, no lantibióticos, lineales y sin modificaciones postraduccionales, termoestables y con una estructura anfifílica helicoidal que permite que actúen a nivel de la membrana plasmática, ocasionando la muerte de la célula sensible (Mondragón et al., 2013).
 - Clase IIa: Péptidos activos contra *Listeria*, conformados por una secuencia amino terminal y contiene entre uno y dos puentes disulfuro. Un ejemplo de estos son pediocina PA-1 y sakacina P (Kemperman et al., 2003).
 - Clase IIb: Formadores de complejos que requieren de dos péptidos en la misma concentración para que se dé una mejor actividad antimicrobiana y dar paso a la formación de poros en la membrana. En este grupo se encuentran las lactococinas G y plantaricinas EF (Zacharof y Lovitt, 2012).
 - Clase IIc: Péptidos pequeños, termoestables, no modificados y que son transportados por péptidos líder. Entre estas se encuentran la divergicina A y acidocina B (Mondragón et al., 2013).
- Clase III: Reúnen grandes péptidos termolábiles, con actividad y estructura compleja. En esta categoría se encuentran las bacteriocinas acidofílica A y lactacinas A y B (Mondragón et al., 2013).
- Clase IV: Bacteriocinas complejas formadas a partir de péptidos con una parte proteica y una o más fracciones lipídicas o glucosídicas necesarias para la actividad biológica. Un ejemplo de estas son lactocina S y mesenterocina 52 (Kemperman et al., 2003).

Entre las bacteriocinas de interés para este estudio se encuentra la nisina, clasificada como una bacteriocina de clase I, la cual actúa generando poros en la membrana celular por la interacción que tiene con el lípido II, además inhibe la biosíntesis de la pared celular interrumpiendo la producción de peptidoglicano (Prince et al., 2016).

Esta formación de poros ocasiona una pérdida rápida de compuestos de bajo peso molecular y despolarización de la membrana celular. Se debe mencionar que la nisina tiene un amplio rango de inhibición contra bacterias Gram positivas, tales como estreptococo, estafilococo, y *Listeria* spp., sin embargo, es inactiva ante las bacterias Gram negativas y es sensible a la actividad de las proteasas digestivas (Molloy, Hill, Cotter y Ross, 2011).

A su vez, la lacticina 3147, también bacteriocina de clase I, se considera efectiva contra todas las bacterias Gram positivas, incluyendo especies de patógenos como *Listeria*, *Clostridium*, *Staphylococcus* y *Streptococcus*, sin embargo, al igual que la nisina, no se ha encontrado que esta tenga un efecto sobre bacterias Gram negativas. La lacticina 3147

posee dos componentes: LtnA1 y LtnA2, el primero es bacteriostático y no forma poros en la membrana celular, ya que inhibe la biosíntesis de peptidoglicano. Por otro lado, el LtnA2 ocasiona lisis en la membrana (Bakhtiary et al., 2017).

Otra bacteriocina de interés es la pediocina PA-1, una variante termoestable de la pediocina (clase IIa), la cual puede tolerar temperaturas de esterilización y -80 °C, además de mantener su actividad en un rango amplio de actividad de agua; esta bacteriocina actúa creando un desbalance parcial o total en la distribución transmembrana de protones a través de interacciones electrostáticas creadas por la región catiónica de esta, produciendo así poros en la membrana del patógeno. Estos poros conllevan a la fuga de iones, adenosín trifosfato (ATP) y otros compuestos celulares e inhibe la fuerza protomotriz (PMF), lo que ocasiona que la bacteria no pueda hacer la síntesis de ATP y que, por consiguiente, no pueda producir energía, por lo que se da la muerte celular (Khorshidian et al., 2021).

La actividad de esta bacteriocina depende del pH, tratamiento térmico, concentración de enzimas proteolíticas, sal y tiempo de almacenamiento (Kareem, 2018). La pediocina forma poros en el citoplasma para después reducir el pH intracelular e inhibe la estimulación de proteína (Bhunja et al., 1991 y Gabrielsen et al., 2014, citados por Kareem 2018).

La pediocina, junto con la nisina, han sido las bacteriocinas con mayor aplicación en la industria alimentaria. Esta presenta un gran potencial para ser utilizada como un agente antimicrobiano, pues es efectiva frente a un gran número de bacterias Gram positivas como *Bacillus*, *Brochotrix* y *Staphylococcus*; sin embargo, no se resulta ser tan efectiva en contra de las bacterias Gram negativas debido a las cubiertas celulares que poseen, las cuales impiden el acceso de las bacteriocinas a la membrana plasmática. Tiene carga neta positiva a pH 6.0 y pH básico entre 8.6-10 (Agudelo, 2013).

L. Pruebas de antagonismo

1. Prueba de difusión

La prueba de difusión en agar está basada en el método Kirby-Bauer, el cual presenta resultados altamente reproducibles. El método de difusión se puede realizar en pozo o disco. El fin de esta determinación es establecer, de forma cuantitativa, el efecto de un conjunto de sustancias sobre las cepas bacterianas que se aíslan de procesos infecciosos. El método se basa en la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo adecuado y sembrado homogéneamente con la bacteria, sobre la cual se ha depositado un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro o se ha sembrado en pozo impregnado con una cantidad conocida de la sustancia (Ramírez y Marín, 2009).

2. Prueba spot test

La prueba de spot test o bien conocida como “spot-on-the-lawn” es una prueba in-vitro antimicrobiana que tiene como base la difusión de la solución con la bacteria en el medio de cultivo para poder evaluar la actividad inhibitoria del microorganismo indicador. Esta prueba da como resultado un halo alrededor de interés cuando se da la inhibición del patógeno de interés. A diferencia de la prueba de difusión, no es necesario inocular la muestra en pozos, pues es suficiente con picar (Macaluso et al., 2016).

M. Bioconservación de alimentos

La bioconservación de alimentos se refiere a la extensión de vida útil de los productos alimenticios y el aumento de la seguridad microbiológica usando una microflora natural o controlada y sus compuestos antimicrobianos (Vásquez, Suárez y Zapata, 2009). En la bioconservación de alimentos se incluyen desde técnicas utilizadas para obtener alimentos más seguros hasta la generación de alimentos mínimamente procesados y sin aditivos (Fuentes y Barboza, 2010).

El término bioconservación se utiliza para el uso de procesos biológicos que cambian las propiedades sensoriales de un alimento tan poco como sea posible. Por ejemplo, la leche se conserva por la transformación en productos de leche agria (Martínez y Trujillo, 2017). Un agente de bioconservación ideal debería mostrar solo actividad antimicrobiana contra bacterias del deterioro o patógenas y no influir negativamente sobre el microbioma intestinal del consumidor (Barcenilla, 2019).

Diferentes estudios han aplicado la bioconservación utilizando bacterias ácido lácticas aisladas de productos lácteos, cárnicos, pescados y vegetales, utilizando las propiedades antibacterianas atribuidas a los productos finales de su metabolismo como el ácido acético, ácido láctico y bacteriocinas (Vásquez, Suarez y Zapata, 2009). De igual manera, este es el tipo de bacterias más utilizado debido a que se reproducen de forma natural en muchos sistemas alimentarios, además de ser utilizadas desde hace mucho tiempo en los alimentos fermentados y son consideradas generalmente como seguras (GRAS), potenciando con esto su uso en la bioconservación (Burgos et al., 2017).

La bioconservación es considerada una opción de enfoque ambiental que puede permitir la seguridad y extensión de vida de anaquel de los alimentos, permitiendo reducir la cantidad de aditivos que se le añaden a estos, contribuyendo así a la inocuidad y salud pública mediante la reducción de microorganismos y, por consiguiente, la disminución de enfermedades transmitidas por alimentos (Cortés y Recillas, 2015).

N. *Salmonella typhimurium*

Salmonella es un género de la familia *Enterobacteriaceae*. Son caracterizadas como bacterias Gram negativas, anaerobias facultativas, asporógenas, de forma bacilar con un tamaño de 1-2 micrómetros. Este microorganismo produce ácido y a veces gas de la glucosa, suelen ser catalasa positiva y oxidasa negativa, además de tener la capacidad de

reducir nitritos y nitratos. Las formas móviles de este microorganismo poseen flagelos peritricos. La mayoría de las cepas, con excepción a *Salmonella thypi*, utilizan el citrato como única fuente de carbono, descarboxilan la lisina, arginina y ornitina, además de producir sulfuro de hidrógeno (Serrano y Marfil, 2003).

Salmonella posee una temperatura óptima de crecimiento entre 35-43 °C, siendo la temperatura mínima de crecimiento un factor a considerar para los alimentos refrigerados. El crecimiento de *Salmonella* se ve reducido de forma significativa a temperaturas inferiores a 15 °C (Serrano y Marfil, 2003; Mora, 2018).

Cuadro 4. Factores que afectan en la supervivencia y crecimiento de *Salmonella* spp.

Parámetro	Rango de crecimiento		
	Mínimo	Óptimo	Máximo
Temperatura (°C)	5	35-43	45-47
pH	4	6.5-8.2	9.5
Actividad de agua	0.94	0.99	-
NaCl (%)	-	-	4-5
Velocidad de crecimiento (t _d) 10 horas/generación, 10 °C			
D ₆₀ = 33 seg - 6.5 min			

Fuente: Serrano y Marfil (2003).

Salmonella typhimurium es una bacteria anaeróbica facultativa que puede sobrevivir en bajas condiciones de oxígeno. Este bacilo no produce esporas y produce ácido a partir de glucosa, maltosa y sorbitol sin la producción de gas, pero no fermenta la lactosa, sacarosa y ramnosa. Su temperatura de crecimiento óptima es a 37 °C, produce nitrito a partir de nitrato y produce ácido sulfhídrico (Espinoza, Revollo y Espada, 2009).

Se ha determinado que *Salmonella typhimurium* tiende a sobrevivir más tiempo en quesos con suero; asimismo, se estableció que los factores que condicionan el crecimiento de este patógeno son: la flora competidora que se encuentra en el medio, el cultivo iniciador, el calor al que es sometido la muestra, el pH, la concentración de sal, la actividad de agua, la cantidad de inóculo, el método de producción del queso y las condiciones del almacenamiento (Alemdar y Ağaoğlu, 2008).

Esta variante de *Salmonella* spp. es la causa número uno de enfermedades transmitidas por alimentos en países occidentales, enfermado a más de un millón de personas cada año en los Estados Unidos; este microorganismo ha demostrado una capacidad notable de adaptación, pues es capaz de invadir una gran cantidad de huéspedes y, dentro de estos, debe pasar por diversos entornos (Girke, van Raaphorst y Willem, 2013).

O. *Escherichia coli*

Sánchez et al., (2013), menciona que *Escherichia coli* es un bacilo corto Gram negativo, catalasa positiva, oxidasa negativa y anaerobio facultativo. La mayoría de las cepas fermentan lactosa, aunque algunas fermentan esta más lento. Las cepas de *E. coli* se

pueden diferenciar serológicamente en relación con los antígenos somáticos (O), flagelares (H) y capsulares (K).

E. coli ha sido utilizada como un indicador microbiológico de la leche pasteurizada y derivados lácteos. Su presencia en los alimentos puede indicar la posible presencia de otros microorganismos patógenos relacionados. Al obtener una presencia de esta bacteria con números significativos puede demostrarse una manipulación deficiente del alimento o la posible presencia de otros patógenos de procedencia entérica (Álvarez, 2011).

La cepa *E. coli* O157:H7 es un serotipo no fermentador del D-sorbitol ni ramnosa, además de no ser productor de β -glucuronidasa. Este microorganismo puede encontrarse en bovinos, cabras y borregos, en donde su principal reservorio es el intestino del ganado bovino. La transmisión de *E. coli* O157:H7 puede darse por ingerir carne cruda o mal cocida, leche contaminada o debida a la mala manipulación de los alimentos (Rodríguez, 2002).

La prevalencia de *Escherichia coli* se ve afectada por distintos factores, incluyendo la temperatura, pH, contenido de carbón orgánico y competencia con otras bacterias. Estudios han demostrado que *E. coli* puede sobrevivir a temperaturas bajas por tiempos prolongados a pH neutro (Yoneda, Nishiyama y Watanabe, 2024).

P. Vida útil

1. Definición

La vida útil de un alimento representa el período de tiempo durante el cual se considera apto para el consumo desde el punto de vista sanitario, manteniendo las características sensoriales, funcionales y nutricionales. Entre las variables que deben considerarse en la vida útil de un alimento están: la naturaleza del alimento, su composición, las materias primas empleadas, el proceso al que fue sometido, el empaque utilizado para su distribución, las condiciones de almacenamiento, transporte y manipulación (Hough y Fiszman, 2005).

2. Evaluación de la vida útil de un alimento

Los estudios de vida útil permiten definir la duración de los alimentos, siendo necesario no sub o sobre dimensionar el tiempo que realmente dura el producto (Álvarez, 2011).

Existen tres métodos para evaluar la vida útil de un producto. Las pruebas de vida útil a tiempo real permiten brindar datos valiosos, pero en algunas ocasiones se requiere de un tiempo prolongado para la obtención de tiempo final (Puma et al., 2018). La simulación y estimación basada en modelos es una técnica que combina expresiones de la sensibilidad del producto, la eficiencia del empaque y la severidad del medio ambiente en un modelo matemático. Por otro lado, las pruebas aceleradas permiten obtener datos en tiempos relativamente cortos, pues estas pruebas consisten en incubar el alimento a condiciones

controladas y diferentes temperaturas, las cuales deben ser mayores a las de almacenamiento y comercialización para que las reacciones de deterioro se aceleren (Puma et al., 2018).

Para determinar la vida útil de un alimento es importante identificar las reacciones químicas o biológicas que influyen en la calidad y seguridad de este, considerando las reacciones más críticas en la calidad a partir de la composición del alimento y del proceso al que es sometido (García y Molina, 2008).

La mayor parte de los estudios de vida útil se basan en la teoría cinética, por la cual es posible determinar la velocidad de modificación de una propiedad o atributo del alimento. La mayoría de las reacciones de deterioro estudiadas en alimentos se han caracterizado como orden 0 o 1, siendo las de primer orden la pérdida de vitaminas, desarrollo microbiano, pérdida de color por oxidación y pérdida de textura en tratamientos térmicos (Toro, Ancco y Ramos, 2014).

En el queso fresco, el tiempo de vida útil es afectado por factores ambientales y fisicoquímicos, tales como los métodos de fabricación y por el uso de compuestos activos empleados para prolongar la vida útil, pero principalmente, esta depende de la calidad de la materia prima. Otro factor que determina la duración de la vida útil es la temperatura de almacenamiento durante su comercialización (Carrillo y Mondragón, 2011).

Para poder evaluar el tiempo de vida útil es necesario definir un indicador de calidad. Este indicador varía en función del tiempo y puede ser medido a través de pruebas fisicoquímicas (como la rancidez y oxidación), biológicas (recuentos microbiológicos) y/o pruebas sensoriales del alimento (color, aroma, textura). El tiempo en el que el indicador llega al límite crítico es lo que se conoce como tiempo de vida útil (Álvarez, 2011).

VII. Metodología

A. Preparación de las cepas patógenas y ácido lácticas

1. Preparación de *Salmonella typhimurium* inoculada

- a) Se cultivó la cepa *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 en tubos de ensayo estériles que contuvieran el caldo tripticasa soya (TSB).
- b) Se incubó la cepa a 37 °C por 24 horas en una incubadora VWR 414005-120 de aire forzado.

Figura 2. Cepa de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 inoculada en TSB



2. Preparación de *Escherichia coli* a inocular

- a) Se cultivó la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 en tubos de ensayo estériles que contuvieran el caldo tripticasa soya (TSB).
- b) Se incubó la cepa a 37 °C por 24 horas en una incubadora VWR 414005-120 de aire forzado.

Figura 3. Cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 inoculada en TSB



3. Preparación de los cultivos probióticos

- a) Se prepararon 7 Erlenmeyer de 250 mL estériles que contuvieran el caldo MRS.
- b) Se tomaron los pellets de las cepas probióticas *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* ATCC BAA-52, *Lactocaseibacillus paracasei* ATCC 334, *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435, *Lactiplantibacillus plantarum* ATCC 8014, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 y *Limosilactobacillus fermentum* ATCC 9338 y se inocularon en los Erlenmeyer correspondientes.
- c) Se incubaron a 30 °C por 72 horas en una incubadora VWR 414005-120 de aire forzado.

Figura 4. Cepas probióticas inoculadas en caldo MRS



B. Control de calidad de la leche

La materia prima utilizada para este estudio fue leche cruda entera de vaca, por lo que no se tuvo un número de lote de esta; se utilizaron 20 litros de leche en total para cada una de las fases de la experimentación, pues los análisis se llevaron a cabo en duplicado, a excepción de la fase de análisis sensorial, ya que esta se hizo solamente una vez, por lo que los 20 litros de leche se emplearon para elaborar suficiente muestra de los quesos a brindar en el panel sensorial. Para el estudio de vida útil, se utilizaron únicamente 10 litros de leche, pues la determinación de esta se hizo solamente una vez. La leche fue almacenada en

cubetas de plástico a temperaturas de refrigeración (4-8 °C); esta temperatura se midió con un termómetro Hanna Instruments. Se elaboraron análisis microbiológicos a la leche luego de la pasteurización para asegurarse que esta no contuviera *Salmonella* spp. ni *Escherichia coli*.

Las pastillas de cuajo marca Marschall fueron adquiridas en farmacias locales, por lo que no tenían un número de lote; el cloruro de calcio tampoco tenía número de lote, pues este fue brindado por la Universidad del Valle de Guatemala en recipientes transparentes que solo tenían el nombre del aditivo.

Se determinó la composición de la leche a través del equipo Ekomilk KAM98-2A, en donde se pudieron establecer los parámetros de grasa, proteína, agua añadida, sólidos no grasos y densidad de esta. Para determinar la acidez de la leche, se tomó una muestra de 9 mL de esta, se le agregó 3 gotas de fenolftaleína al 1 % como indicador de viraje y luego se tituló con hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N usando una bureta de 50 mL marca Kimax, hasta que se alcanzó una coloración rosa pálido persistente; esta acidez se expresó en grados Dornic y en porcentaje de ácido láctico, tomando en cuenta que 1 grado Dornic equivale a 0.1 mL de NaOH 0.1 N usados en la titulación y que 1 grado Dornic equivale a 0.1 gramos de ácido láctico por litro (Pinheiro et al., 2022). De igual manera, se midió el pH de la leche cruda con un potenciómetro marca Hannah Instruments modelo HI 99161. Estos tres análisis se realizaron en triplicado por cada lote de leche. Se tomó como valor teórico el intervalo de 0.14-0.18 de porcentaje de ácido láctico (Gotardi et al., 2022), mientras que para los grados Dornic se usó como referencia 14-18 °D (Pinheiro et al., 2022). Finalmente, para el pH de la leche se utilizó como referencia el intervalo de 6.5-6.7 (González, 2013).

De igual manera, se le hicieron análisis microbiológicos a la leche luego de la pasteurización y previo a la elaboración del queso, haciendo pruebas para determinar *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. para asegurarse que no contuviera ninguno de estos dos patógenos. Para esto, primero se pesaron 25 gramos de muestra de la leche dentro de una jarra estéril, utilizando una balanza digital marca Ohaus; después, esto se diluyó con 225 mL de agua peptonada al 0.1 % (dilución 10^{-1}), los cuales fueron medidos con una probeta Kimax. Esto se agitó por 2 minutos de forma manual y se dejó incubar por 24 horas a 37 °C en una incubadora VWR 414005-120 de aire forzado. Después de esto, para la determinación de *Escherichia coli*, se tomaron 1000 µL con una pipeta Thermo Scientific modelo Finnpiptette F2 y se vertió en una caja Petri estéril, para luego verter 20 mL de agar Chromocult®. Este último paso se hizo en duplicado. Las cajas Petri fueron incubadas por 24 horas a 37 °C en una incubadora VWR 414005-120 de aire forzado. Esto se evaluó de forma cualitativa como presencia/ausencia en la leche.

Ahora, para la determinación de *Salmonella* spp., se tomaron 100 µL con una pipeta Thermo Scientific modelo Finnpiptette F2 y se colocaron en un tubo estéril que contuviese el caldo Rappaport-Vassiliadis; adicionalmente, se extrajeron 1000 µL con una pipeta Thermo Scientific modelo Finnpiptette F2 y se vertieron en un tubo estéril que tuviese caldo tetracionato. Ambos tubos se dejaron incubar por 24 horas a 37 °C en una incubadora VWR 414005-120 de aire forzado. Posterior a este tiempo, se tomó una muestra de cada tubo con un asa y se estriaron en agar XLD y Rambach para la detección cualitativa de *Salmonella* spp., como presencia/ausencia (Hu y Zhang, 2024).

Figura 5. Determinación de la composición de la leche, acidez, pH, *E. coli* y *Salmonella* spp. en la leche



Determinación de la composición

Determinación de la acidez

Medición de pH

Determinación de *E. coli*

Determinación de *Salmonella* spp. en agar XLD (izquierda) y agar Rambach (derecha)

C. Elaboración y contaminación del queso fresco

1. Elaboración del queso fresco

- a) Se pasteurizó la leche a 65 °C por 30 minutos en una olla y se dejó enfriar a 40 °C, midiendo la temperatura con un termómetro digital marca Hanna.
- b) Se pesó el cloruro de calcio (20 g/100 litros) en una balanza digital marca Ohaus y se mezcló.
- c) Se añadió un ¼ de la pastilla de cuajo previamente solubilizada en 50 mL de agua destilada a la leche.
- d) Se agitó por un minuto para homogeneizar y se dejó reposar por 50 minutos.
- e) Se cortó la cuajada con un cuchillo, tanto de forma horizontal como vertical y se dejó reposar por 2 minutos.
- f) Se escurrió la cuajada usando un colador, presionando hasta obtener la cantidad de humedad deseada en esta.

- g) Se pesó la cuajada para medir el rendimiento en una balanza digital marca Ohaus, se separó en cinco partes iguales y se colocó en bandejas de metal.
 - h) Se agregó 1 % de sal con relación al peso de la cuajada y se amasó el queso.
 - i) Se agregó 1000 μL del probiótico y 1000 μL de *Salmonella typhimurium* con una pipeta Thermo Scientific modelo Finnpiquette F2 de 100 μL de la misma marca de acuerdo con los tratamientos a realizar.
 - j) Se amasó el queso por 2 minutos
 - k) Se moldeó el queso en una bandeja de plástico previamente desinfectada, se colocó dentro de una bolsa de alta barrera de EVOH y se selló con una selladora de calor.
 - l) Se almacenaron los quesos a una temperatura de 4-8 °C. Esta temperatura se monitoreo con un termómetro Hanna Instruments.
 - m) Se repitió el procedimiento para la elaboración de quesos con *E. coli*.
 - n) Se realizó el mismo procedimiento para elaborar los quesos a utilizados en el análisis sensorial, agregando únicamente los probióticos. El queso control para el estudio de vida útil y el análisis sensorial fue un queso fresco elaborado sin probióticos ni patógenos, mientras que, para el resto de los experimentos, el queso control fue elaborado solo con el patógeno, sin probióticos.
- (Faillace, 2019; Lara, 2017; Álvarez, 2011)

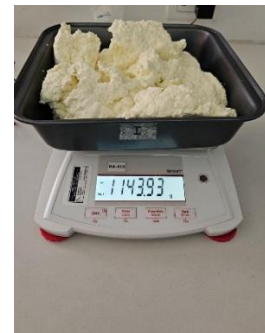
Figura 6. Diagrama de flujo de los pasos para la elaboración del queso



1. Pasteurizar la leche a 65 °C por 30 minutos



2. Desuerar luego de la coagulación.



3. Pesar la cuajada para distribuirlo.



4. Adicionar el probiótico y/o patógeno, amasar y moldear.



5. Sellar y almacenar en refrigeración (4-7 °C).

2. Sanitización de los utensilios utilizados en la elaboración del queso fresco

- a) Se colocaron los utensilios empleados en una olla de metal grande.
- b) Se puso la olla en una estufa y se encendió el fuego.
- c) Una vez hirvió el agua (92-94 °C), se dejaron estos por 25 minutos en el fuego.
- d) Se removieron los utensilios del agua.
- e) Para los utensilios que podían autoclavarse, se colocaron dentro del autoclave marca All American modelo 25X y se esterilizaron a 121 °C y 15 psi por 15 minutos.
- f) Se colocaron estos en una cubeta que contuviera una solución de cloro con 600 ppm y se dejó actuar por 15 minutos.
- g) Se sacaron los utensilios de la solución de cloro y se lavaron con agua y jabón.
- h) Se les aplicó alcohol al 70 % a los utensilios para desinfectarlos.

(Washington State Department of Health, 2015; Centers for Disease Control and Prevention, 2025)

3. Sanitización de las superficies utilizadas en la elaboración del queso fresco

- a) Se realizó una solución de cloro con una concentración de 600 ppm.
- b) Se colocó, con una esponja, esta solución encima de las superficies en las que se trabajó con patógenos y se dejó actuar por 20 minutos.
- c) Se removió la solución de cloro de las superficies con agua fría y se quitó con papel toalla.
- d) Se elaboró una solución de jabón con agua caliente con una concentración de 50 ppm.
- e) Se colocó esta solución en las superficies con la ayuda de una esponja y se dejó actuar por 15 minutos.
- f) Se removió la solución de jabón con agua caliente con papel toalla.
- g) Se aplicó alcohol al 70 % a las superficies para desinfectarlas.

(Centers for Disease Control and Prevention, 2025)

D. Evaluación de la actividad antagónica

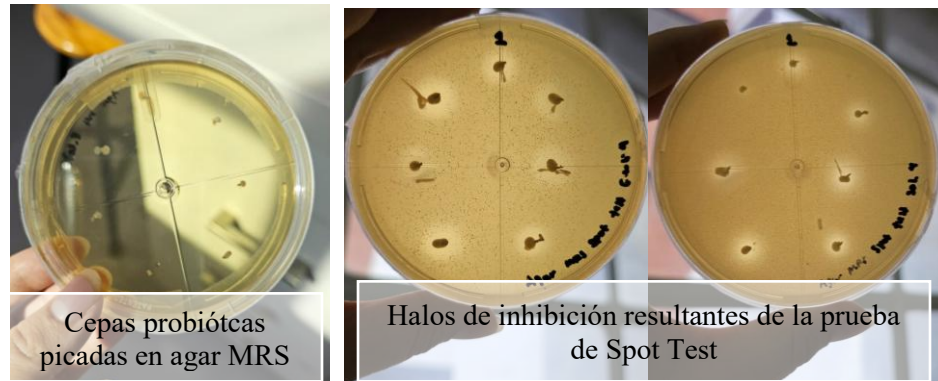
1. Prueba de spot test

- a) Se incubaron previamente las cepas probióticas a evaluar en caldo MRS por 72 horas a 30 °C en una incubadora VWR 414005-120 de aire forzado.
- b) Se picó cada una de las cepas de probióticas a utilizar sobre una placa de agar MRS y esta se selló con Parafilm.
- c) Se incubaron las cajas a 30 °C por 20-24 horas bajo condiciones anaeróbicas en una incubadora VWR 414005-120 de aire forzado.
- d) Se inoculó 1000 µL de *S. typhimurium* utilizando una pipeta Thermo Scientific modelo Finnpiptette F2 en 250 mL de agar tripticasa soya temperado a 45 °C.
- e) Se agregó una capa de agar tripticasa soya con *S. typhimurium* al agar MRS con probióticos.

- f) Los pasos b) y e) se realizaron en triplicado.
- g) Se repitió el procedimiento indicado para medir la actividad bacteriogénica ante *Escherichia coli*.
- h) Se incubaron las muestras por 24 horas a una temperatura de 37 °C en una incubadora VWR 414005-120 de aire forzado.
- i) Se evaluó si existían halos de inhibición presentes en el agar y se hizo la medición de estos con una regla de 10 cm.

(Settani et al., 2008; Kang y Fung, 2000; Sáez, 2016)

Figura 7. Cepas probióticas picadas en agar MRS y halos de inhibición resultantes de la prueba de spot test



Cepas probióticas picadas en agar MRS

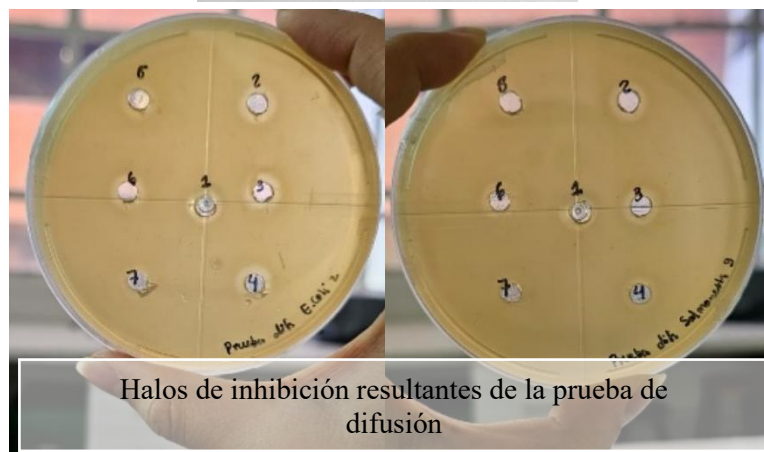
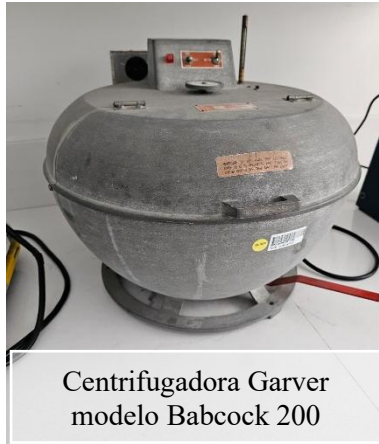
Halos de inhibición resultantes de la prueba de Spot Test

2. Prueba por difusión

- a) Se prepararon 350 mL de caldo MRS y se distribuyeron en 7 tubos cónicos de 50 mL marca VWR.
- b) Se inoculó, con un asa, cada una de las cepas en un tubo cónico y se dejaron incubar estos por 72 horas a 30 °C en una incubadora VWR 414005-120 de aire forzado.
- c) Se tomaron estos tubos y se colocaron dentro de una centrifugadora Garver modelo Babcock 200 y se dejaron centrifugar por 6 horas a 836 rpm.
- d) Se tomó 15 mL del sobrenadante de cada uno de los tubos tónicos con una pipeta Thermo Scientific modelo FinnpiPETTE F2 de 1000 µL y se transfirieron a tubos de ensayo estériles.
- e) Se preparó 1000 mL de agar tripticasa soya y se le inoculó 1000 µL de *S. typhimurium* utilizando una pipeta Thermo Scientific modelo FinnpiPETTE F2.
- f) Se vertió el agar con patógeno en cajas Petri y se dejaron solidificar por 4-5 horas a temperaturas de refrigeración (4-7 °C).
- g) Una vez solidificado el agar, utilizando una campana de Durham, se abrieron 7 agujeros en el agar solidificado, uno para cada probiótico a evaluar.
- h) Se tomó una pipeta Thermo Scientific modelo FinnpiPETTE F2 de 100 µL y se vertieron 30 µL aproximadamente del sobrenadante extraído de cada uno de los probióticos en el agujero asignado.
- i) Se dejó incubar las muestras por 24 horas a una temperatura de 37 °C en una incubadora VWR 414005-120 de aire forzado.

- j) Se evaluó si existían halos de inhibición presentes en el agar y se hizo la medición de estos con una regla de 10 cm.
(Settani et al., 2008; Kang, 2000; Sáez, 2016)

Figura 8. Centrifugadora utilizada durante la experimentación y halos de inhibición resultantes de la prueba por difusión



E. Análisis microbiológico de los quesos elaborados

1. Recuento de *Escherichia coli*

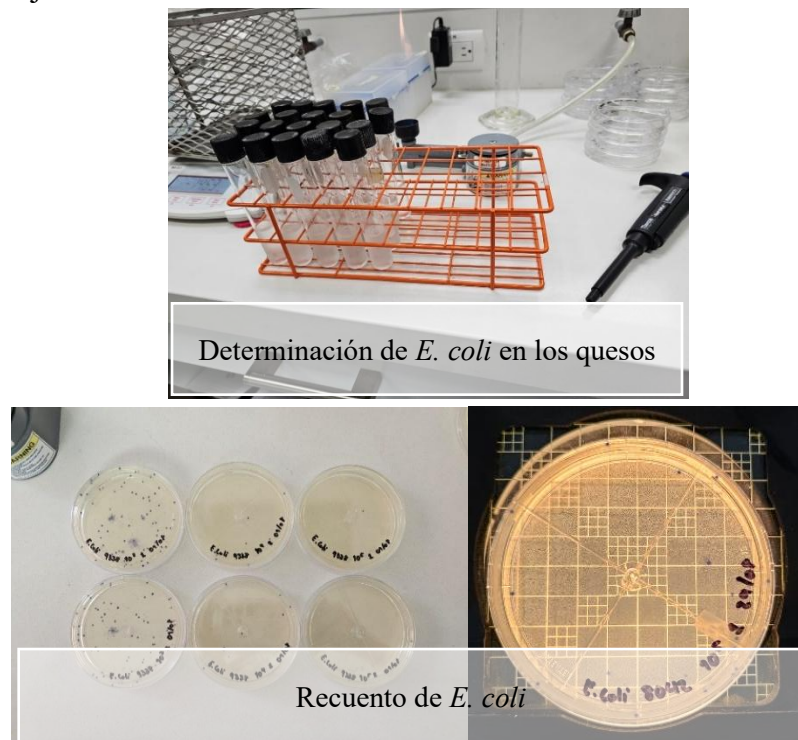
- Se pesaron 25 gramos de queso en una bolsa para digester estéril marca Filtra Bag y se agregaron 225 mL de caldo tripticasa soya o agua peptonada al 0.1 %, medidos en una probeta marca Kimax con capacidad de 250 mL.
- Se colocó la bolsa dentro del digester Stomacher 400 Circulator y se agitó por 30 segundos a 230 rpm (Dilución 10^{-1}).
- Se abrió la bolsa con la muestra digerida y, con una pipeta Thermo Scientific modelo Finnpiptette F2 de 1000 μL , se tomó una alícuota y se transfirió a un tubo de ensayo estéril que contenía 9 mL de agua peptonada al 0.1 %.

- d) Se homogeneizó a 3000 rpm por 10 segundos utilizando el agitador marca Daigger modelo Vortex-Genie 2 (Dilución 10^{-2}). Se repitió este procedimiento hasta obtener diluciones de 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} .
- e) Se sembraron 1000 μ l de las diluciones 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} en cajas Petri estériles, los cuales fueron medidos con una pipeta Thermo Scientific modelo Finnpipeete F2 de esta capacidad. Este paso se realizó en duplicado.
- f) Se tomó el tubo de ensayo en el que se contenía la cepa *E. coli* utilizada para la contaminación de los quesos, tomando una alícuota de 1000 μ L con una pipeta Thermo Scientific modelo Finnpipeete F2 (Dilución 10^{-1}), la cual fue transferida a un tubo de ensayo estéril que contenía 9 mL de agua peptonada buferada al 0.1 % (Dilución 10^{-2}).
- g) Se repitieron los pasos d) y e), obteniendo diluciones 10^{-7} y 10^{-8} , sembrando 1000 μ l en las cajas Petri estériles, los cuales fueron medidos con una pipeta Thermo Scientific modelo Finnpipeete F2 de esta capacidad. Este paso se realizó en duplicado.
- h) Se vertieron 20 mL de agar Chromocult® sobre las cajas Petri.
- i) Se mezcló rotando en forma de 8 el contenido de las placas y se dejó solidificar.
- j) Se incubaron las cajas a 37 °C por 24 horas y se hizo el recuento de *E. coli*.

El muestreo para estos quesos se hizo con una frecuencia de 48 horas por dos semanas. La medición y recuento de la cepa de *E. coli* utilizada se llevó a cabo solamente en el día en el que se elaboraron los quesos.

(Martínez y Trujillo, 2017; Robledo, 2015)

Figura 9. Determinación de *E. coli* en los quesos frescos y recuentos obtenidos en las cajas Petri



2. Recuento de *Salmonella typhimurium* presente en el queso fresco elaborado

- a) Se pesaron 25 gramos de queso en una bolsa para digestor estéril marca Filtra Bag y se agregaron 225 mL de caldo tripticasa soya o agua peptonada al 0.1 %, medidos en una probeta marca Kimax con capacidad de 250 mL.
- b) Se colocó la bolsa dentro del digestor Stomacher 400 Circulator y se agitó por 30 segundos a 230 rpm (Dilución 10^{-1}).
- c) Se abrió la bolsa con la muestra digerida y, con una pipeta Thermo Scientific modelo Finnpiquette F2 de 1000 μ L, se tomó una alícuota y se transfirió a un tubo de ensayo estéril que contenía 9 mL de agua peptonada buferada al 0.1 %.
- d) Se homogeneizó a 3000 rpm por 10 segundos utilizando el utilizando el agitador marca Daigger modelo Vortex-Genie (Dilución 10^{-2}). Se repitió este procedimiento hasta obtener diluciones de 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7} .
- e) Se sembraron 100 μ l de las diluciones 10^{-6} y 10^{-7} en cajas Petri estériles que contuvieran agar tripticasa soya, los cuales fueron medidos con una pipeta Thermo Scientific modelo Finnpiquette F2 de esta capacidad. Este paso se realizó en duplicado.
- f) Se tomó el tubo de ensayo en el que se contenía la cepa *S. typhimurium* utilizada para la contaminación de los quesos, tomando una alícuota de 1000 μ L con una pipeta Thermo Scientific modelo Finnpiquette F2 (Dilución 10^{-1}), la cual fue transferida a un tubo de ensayo estéril que contenía 9 mL de agua peptonada al 0.1 % (Dilución 10^{-2}).
- g) Se repitieron los pasos d) y e), obteniendo diluciones 10^{-9} y 10^{-10} , sembrando 100 μ l en las cajas Petri estériles que contenían agar tripticasa soya, los cuales fueron medidos con una pipeta Thermo Scientific modelo Finnpiquette F2 de esta capacidad. Este paso se realizó en duplicado.
- h) Haciendo uso de un esparcidor de vidrio en forma de L, se distribuyó de forma homogénea el inóculo sobre la superficie del agar contenido en la caja Petri.
- i) Se dejaron secar las cajas Petri por 2 horas a 42 °C dentro de una incubadora marca Thermo Scientific, modelo HERATHERM IGS60.
- j) Se colocó una sobrecapa de 15 mL de agar XLD a cada una de las cajas Petri sembradas.
- k) Se incubaron las cajas a 37 °C por 24 horas y se hizo el recuento de cada una de *S. typhimurium*.

(Martínez y Trujillo, 2017; Robledo, 2015)

El muestreo para estos quesos se hizo con una frecuencia de 72 horas por tres semanas. La medición y recuento de la cepa de *S. typhimurium* utilizada se llevó a cabo solamente en el día en el que se elaboraron los quesos.

Figura 10. Determinación de *S. typhimurium* en los quesos frescos y recuentos obtenidos en las cajas Petri



F. Análisis organoléptico y de vida útil

1. Evaluación de la aceptación sensorial de los quesos elaborados

Los quesos frescos a utilizar en el panel sensorial se dejaron madurar por 14 días, almacenados en refrigeración a 4-8 °C aproximadamente; esta temperatura fue controlada con un termómetro Hanna Instruments. Se realizó un panel sensorial con 60 panelistas consumidores de queso fresco. Se brindaron muestras de 5 gramos de cada uno de los quesos elaborados con los diferentes probióticos y sin patógenos; de igual manera, se dio una muestra de 5 gramos del queso patrón (sin probióticos ni patógenos); las muestras fueron pesadas en una balanza marca Kern modelo PFB 2000-2. Para servir las mismas, se colocaron en un vaso de una onza codificadas con tres números aleatorios de acuerdo con la hoja maestra y se colocaron en un plato de plástico. Se usó una escala hedónica de 9 puntos para medir los parámetros de aceptación general, color, olor, textura y sabor de cada uno de los quesos.

Figura 11. Preparación de muestras de los quesos para el panel sensorial



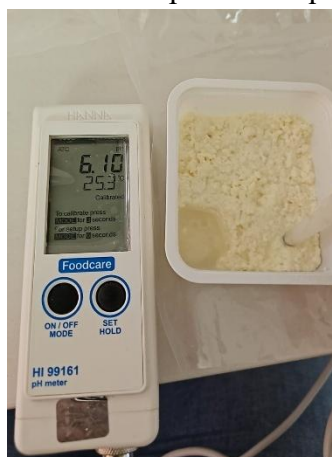
Figura 12. Panelistas evaluando las muestras de queso fresco presentadas



2. Determinación de la vida útil de los quesos

El estudio de vida útil se llevó a cabo en tiempo real, realizando mediciones cada 5 días hasta llegar al día 14, posteriormente se midió cada 2 días y, al llegar al día 20 de vida útil, se volvieron a realizar mediciones cada 5 días hasta que se llegó al final de esta. Se tomó una muestra de los quesos almacenados en refrigeración (4-8 °C) para medirles acidez titulable y pH, además de evaluar sus características sensoriales de forma visual, estudiando el olor, textura y color. La temperatura de almacenamiento de las muestras se midió con un termómetro Hanna Instruments. El pH de las muestras se midió directamente en los quesos producidos en tres puntos distintos, haciendo uso de un potenciómetro marca Hanna modelo HI 99161. Para este parámetro fisicoquímico, se tomó como referencia que el pH de este queso es mayor a 6 (Van Hekken et al., 2017) y, como límite superior, se tomó el valor de 6.60 (Holle et al., 2018). Se consideró que los quesos llegaron al final de su vida útil cuando los parámetros de pH dejaron de cumplir con lo establecido por estos estudios citados.

Figura 13. Medición de pH en los quesos frescos



Ahora, la acidez titulable se determinó de la siguiente manera: en un beaker de 50 mL marca Kimax, se pesó 10 gramos de cada uno de los quesos haciendo uso de una balanza marca Ohaus. Posteriormente, se midió 50 mL de agua hirviendo en una probeta de 100 mL marca Kimax y se adicionaron a la muestra del queso. Se mezcló por 2 minutos con una varilla de vidrio y se decantó en un balón aforado de 100 mL. Este paso se repitió dos veces, añadiendo 20 mL de agua hirviendo medidos con la probeta de 100 mL marca Kimax. Posteriormente, se aforó a 100 mL y se homogeneizó la muestra. Se tomó 50 mL del aforado y se vertieron en dos Erlenmeyer marca Kimax de 250 mL, para hacer la medición de la acidez titulable en duplicado. Se añadió 3 gotas de fenolftaleína al 1 % y se tituló con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 0.1 N, usando una bureta de 50 mL marca Kimax, hasta que se alcanzó una coloración rosa pálido persistente. El resultado se expresó en porcentaje de ácido láctico, tomando en cuenta que 1 mL de NaOH 0.1 N equivale a 0.009 gramos de ácido láctico (Paz, 2022). Para este parámetro, se tomó como referencia el rango de 0.08-0.18 % de ácido láctico en el queso fresco (Gutiérrez et al., 2023).

Figura 14. Determinación de la acidez titulable en las muestras de queso fresco



G. Plan de análisis de datos

1. Calidad de la leche y rendimiento del queso

Se hizo la medición de los parámetros de grasa, sólidos no grasos, densidad y proteína, pH y acidez titulable. Además, se hizo la detección de *E. coli* y *Salmonella* spp. y, para el queso, se determinó el rendimiento. Para ambos productos se midió la temperatura de almacenamiento. Se calculó media y desviación estándar para cada uno de los parámetros, con excepción de la detección de *E. coli* y *Salmonella* spp., pues estas últimas se hicieron de forma cualitativa, únicamente como presencia/ausencia.

2. Evaluación de la actividad antagonista

Se llevó a cabo la medición de tamaño del halo de inhibición de cada una de las pruebas elaboradas con los patógenos. Se calculó media y desviación estándar para cada uno de los tratamientos.

3. Pruebas de reducción microbiológica

Se determinó la reducción de la carga de los patógenos en los quesos inoculados con probióticos, reportando estos resultados en log UFC/g. Se determinó promedio y desviación estándar para estas mediciones en cada uno de los días, las cuales se reportaron en un cuadro. La cantidad de unidades logarítmicas reducidas promedio se presentó en gráfico de barras; asimismo, se utilizó un gráfico de dispersión para mostrar esta reducción por cada día de medición a lo largo del tiempo.

4. Prueba sensorial de aceptación general

Se midió la aceptación general, color, olor, textura y sabor de cada una de las muestras de queso inoculadas con probióticos; se procedió a hacer un análisis de estadística descriptiva para interpretar los resultados a obtener, por lo que se determinó el promedio de cada uno de los atributos. Posteriormente, se hizo un ANOVA de un factor con la prueba de Tukey en el software RStudio para establecer si existía diferencia significativa entre los atributos organolépticos evaluados. Las hipótesis planteadas se presentan en la sección VI. A. de este documento.

Para el ANOVA de un factor, las hipótesis se plantearon de la siguiente manera:

$$H_0: p = \alpha$$

$$H_a: p > \alpha$$

En donde $\alpha = 0.05$. Se utilizó el valor p como criterio de aceptación, por lo que, si se rechaza la hipótesis nula, es decir, si el valor $p \leq \alpha$, se indica que existe diferencia significativa en los atributos sensoriales de las muestras de queso evaluadas. Asimismo, se graficó el promedio de los resultados de cada atributo en gráficos de barras.

Se elaboró la prueba de Tukey HSD en RStudio para establecer la divergencia entre las medianas y si existe una diferencia significativa en la calificación de los atributos sensoriales al momento de inocular el probiótico en las muestras de queso fresco.

5. Determinación de vida útil

Para la determinación de vida útil se evaluaron los parámetros sensoriales, acidez titulable y pH. Para la acidez titulable y el pH, se calculó promedio y desviación estándar, además de presentar estos resultados en gráficos de dispersión para poder analizar la tendencia a lo largo del tiempo; en cada uno de los gráficos se colocaron los límites respectivos para ese parámetro. Para las características sensoriales, se presentó el resumen de las características organolépticas de textura, color y aroma al inicio y fin de su vida útil.

Finalmente, se hizo un gráfico de barras presentando la cantidad de días de vida útil que tuvieron las muestras de queso.

VIII. Resultados

A. Control de calidad de la leche y rendimiento del queso

Cuadro 5. Composición promedio de la leche cruda utilizada

Parámetro	Promedio	Desviación estándar
Grasa (%)	3.30	0.37
Densidad (g/L)	1031.30	1.25
Sólidos no grasos (%)	8.68	0.33
Proteína (%)	3.11	0.12

En el Cuadro 5 es posible observar el promedio de los parámetros medidos de grasa, densidad, sólidos no grasos y proteína, los cuales son de 3.30 %, 1031.30 g/L, 6.68 % y 3.11 %, respectivamente. Adicionalmente, se presenta la desviación estándar, la cual se puede considerar baja para los parámetros analizados.

Cuadro 6. pH, porcentaje de ácido láctico y grados Dornic de la leche pasteurizada

Parámetro	Promedio	Desviación estándar
pH	6.55	0.06
Ácido láctico (%)	$1.45 \cdot 10^{-2}$	$3.45 \cdot 10^{-3}$
Grados Dornic (°D)	1.61	0.38

Ahora, en el Cuadro 6 se presentan los resultados de pH, porcentaje de ácido láctico y grados Dornic, teniendo valores de 6.55, $1.45 \cdot 10^{-2}$ % y 1.61 °D para cada parámetro, respectivamente. Adicionalmente, se presenta la desviación estándar para estos, la cual se puede considerar baja.

Cuadro 7. Resultados microbiológicos de *E. coli* y *Salmonella* spp. en la leche pasteurizada

Patógeno	Resultado
<i>E. coli</i>	Ausencia de UFC/25g
<i>Salmonella</i> spp.	Ausencia de UFC/25g

En el Cuadro 7 se presentan los resultados microbiológicos obtenidos para la leche luego del proceso de pasteurización, siendo posible apreciar que estos dos patógenos estuvieron ausentes. Estos fueron los resultados que se obtuvieron cada vez que se analizó la leche después de este proceso.

Cuadro 8. Rendimiento promedio del queso

Promedio (%)	Desviación estándar (%)
12.48	1.32

En el Cuadro 8 se observa el rendimiento promedio del queso a lo largo de la experimentación, el cual fue de 12.48 %. También se presenta la desviación estándar con un valor de 1.32 %, por lo que puede considerarse baja.

Cuadro 9. Temperatura promedio de almacenamiento del queso y la leche

Promedio (°C)	Desviación estándar (°C)
3.94	0.78

En el Cuadro 9 se observa la temperatura promedio del queso y la leche a lo largo del almacenamiento durante la experimentación, la cual fue de 3.94 °C. También se presenta la desviación estándar con un valor de 0.78 °C, por lo que puede considerarse baja.

B. Pruebas de antagonismo y selección de cepas

Cuadro 10. Resultados promedio obtenidos para las pruebas de antagonismo entre los probióticos y *Escherichia coli* ATCC 25922

Probiótico	Spot-test (cm)	Difusión (cm)
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> ATCC BAA-52	0.66 ± 0.05	0.44 ± 0.05
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> ATCC 334	0.90 ± 0.14	0.44 ± 0.05
<i>Pediococcus acidilactici</i> ATCC 8042	0.80 ± 0.07	0.49 ± 0.03
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	0.94 ± 0.14	0.49 ± 0.08
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> ATCC 8014	0.85 ± 0.13	0.18 ± 0.20
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	0.69 ± 0.47	0.38 ± 0.03
<i>Lactobacillus fermentum</i> ATCC 9338	0.79 ± 0.12	0.41 ± 0.13

Cuadro 11. Resultados promedio obtenidos para las pruebas de antagonismo entre los probióticos y *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

Probiótico	Spot-test (cm)	Difusión (cm)
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> ATCC BAA-52	0.66 ± 0.05	0.53 ± 0.06
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> ATCC 334	0.00 ± 0.00	0.38 ± 0.21
<i>Pediococcus acidilactici</i> ATCC 8042	0.71 ± 0.13	0.41 ± 0.09
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	0.55 ± 0.13	0.48 ± 0.10
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> ATCC 8014	0.68 ± 0.13	0.39 ± 0.07
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	0.84 ± 0.05	0.49 ± 0.09
<i>Lactobacillus fermentum</i> ATCC 9338	0.74 ± 0.12	0.48 ± 0.09

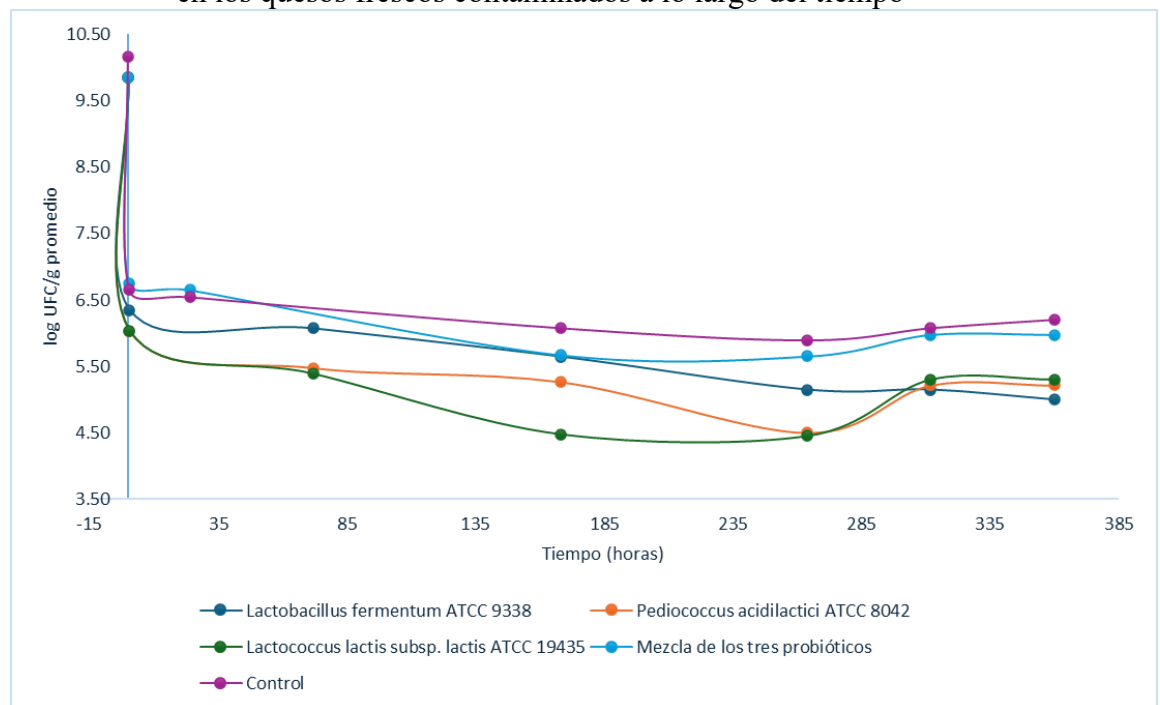
En el Cuadro 10, se pueden presentar los halos de inhibición obtenidos para *Escherichia coli* ATCC 25922, los cuales oscilan entre (0.94 ± 0.14) cm para la prueba de spot-test y un valor de (0.44 ± 0.05) cm para la prueba de difusión; de igual manera, al observar los resultados presentados, puede apreciarse que los valores más bajos para la prueba de spot test se encontraron entre (0.66 ± 0.05) cm, mientras que para la prueba de difusión estos oscilaron entre (0.18 ± 0.20) cm. Por otro lado, en el Cuadro 11, se presentan los halos de inhibición medidos para *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, pudiendo denotar que los valores estuvieron entre (0.71 ± 0.13) cm para la prueba de spot test y entre (0.48 ± 0.10) cm para la prueba de difusión.

Ahora, en cuanto a los resultados promedio entre las pruebas, se pudo determinar que las tres cepas que presentaron halos de inhibición significativos en ambos patógenos fueron los probióticos *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435 y *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338; es importante mencionar que cada probiótico presentó resultados variables ante ambos patógenos seleccionados, por lo que también, en el criterio de selección, se tomó en cuenta que los valores de los halos de inhibición producidos por las cepas probióticas tuviesen resultados similares. Es posible apreciar que, para *Escherichia coli* ATCC 25922, el probiótico que tuvo halos de inhibición promedio más altos fue la cepa de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435, obteniendo valores promedio de (0.94 ± 0.14) cm para la prueba de spot test y (0.49 ± 0.08) cm para la prueba de difusión; por otro lado, para la cepa *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, esta presentó valores de (0.55 ± 0.13) cm para la prueba de spot test y (0.48 ± 0.10) cm.

También, se observó que la cepa *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 presentó halos de inhibición que se encontraban en (0.80 ± 0.07) cm para la prueba spot test y (0.49 ± 0.03) cm para la prueba de difusión cuando ésta se ejecutó con *Escherichia coli* ATCC 25922; ahora, para *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, los resultados se encontraron entre (0.71 ± 0.13) cm para la prueba del spot test y (0.41 ± 0.09) cm. Finalmente, *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 tuvo halos de inhibición de (0.79 ± 0.12) cm y (0.41 ± 0.13) cm para prueba de spot test y prueba de difusión, respectivamente, ante la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922. Por otro lado, ante *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, este probiótico presentó valores de (0.74 ± 0.12) cm para la prueba de spot test y (0.48 ± 0.09) cm para la prueba de difusión. Tomando en cuenta los resultados y el criterio mencionado con anterioridad, se hizo la delimitación a utilizar únicamente cuatro tratamientos, los cuales corresponden a cada uno de los probióticos seleccionados y una mezcla de estos.

C. Reducción en el crecimiento de *Escherichia coli* ATCC 25922

Figura 15. Evolución de los recuentos promedio de *Escherichia coli* ATCC 25922 en los quesos frescos contaminados a lo largo del tiempo



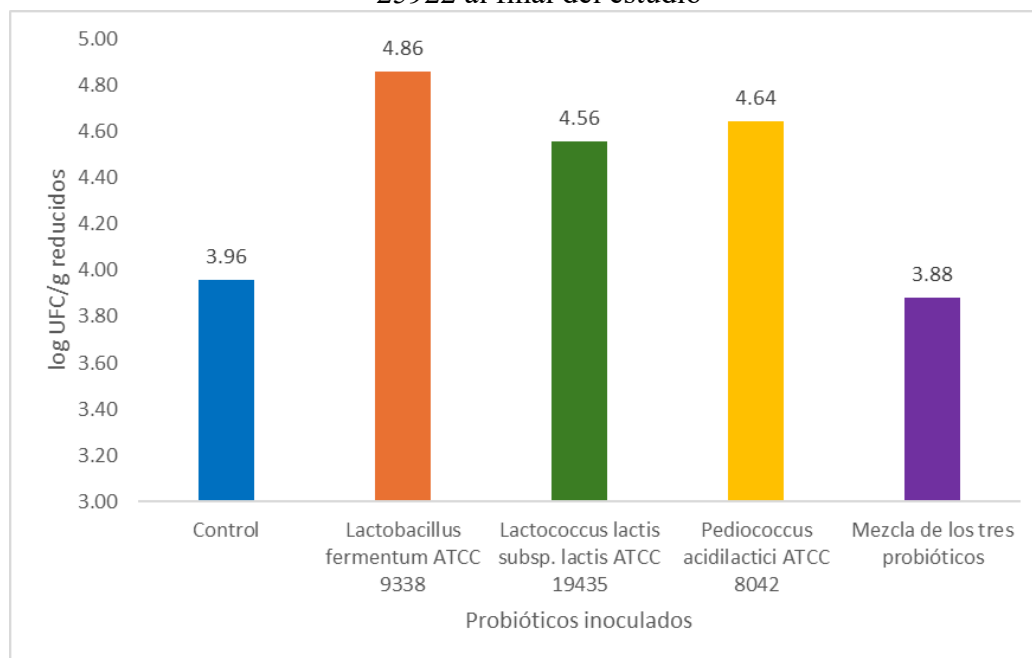
En la Figura 15 se presenta el comportamiento de los recuentos promedio de *Escherichia coli* ATCC 25922 en los quesos frescos elaborados con cada uno de los tratamientos. Es posible apreciar que se tuvo una disminución considerable a lo largo del tiempo en los recuentos del patógeno; sin embargo, al finalizar el tiempo del estudio, se puede apreciar que la curva crece. Se puede observar que el tratamiento que tuvo una mayor reducción fue *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338.

Cuadro 12. Recuento promedio de log UFC/g de *Escherichia coli* ATCC 25922 en los quesos frescos contaminados a lo largo del tiempo de experimentación

Tiempo (horas)	Tratamientos				
	Control	<i>Lb. fermentum</i> ATCC 9338	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	Mezcla de probióticos
0	9.86 ± 0.03	9.86 ± 0.03	9.86 ± 0.03	9.86 ± 0.03	9.86 ± 0.03
0.5	6.65 ± 0.49	6.35 ± 0.49	6.04 ± 0.62	6.04 ± 0.80	6.75 ± 0.21
24	6.54 ± 0.09	6.07 ± 0.10	5.48 ± 1.41	5.39 ± 0.86	6.65 ± 0.49
96	6.07 ± 0.32	5.65 ± 0.86	5.27 ± 1.79	4.48 ± 1.66	5.67 ± 0.46
264	5.89 ± 0.58	5.15 ± 0.21	4.50 ± 0.71	4.45 ± 1.63	5.65 ± 0.49
312	6.07 ± 0.10	5.15 ± 0.21	5.22 ± 1.04	5.30 ± 0.43	5.98 ± 0.03
360	6.20 ± 0.28	5.00 ± 0.00	5.21 ± 1.04	5.30 ± 0.42	5.98 ± 0.03

En el Cuadro 12 se encuentran las unidades logarítmicas para cada uno de los tratamientos con su respectiva desviación estándar, para cada uno de los días, pudiendo apreciar que se obtuvieron fluctuaciones en los recuentos realizados a lo largo del tiempo del experimento.

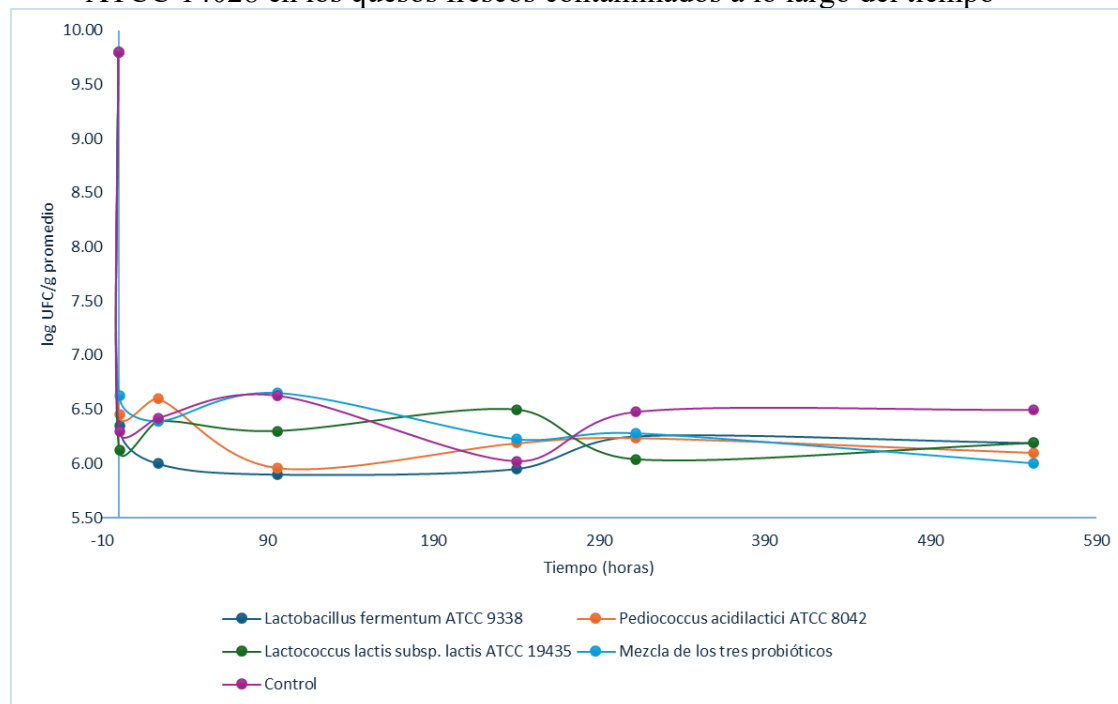
Figura 16. Unidades logarítmicas reducidas promedio de *Escherichia coli* ATCC 25922 al final del estudio



En la Figura 16 se encuentran las unidades logarítmicas reducidas para cada uno de los tratamientos, en donde se puede observar que la mezcla de los tres probióticos fue la que redujo menos unidades logarítmicas, mientras que los probióticos que tuvieron una reducción mayor fueron *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 y *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042.

D. Reducción en el crecimiento de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

Figura 17. Evolución de los recuentos promedio de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 en los quesos frescos contaminados a lo largo del tiempo



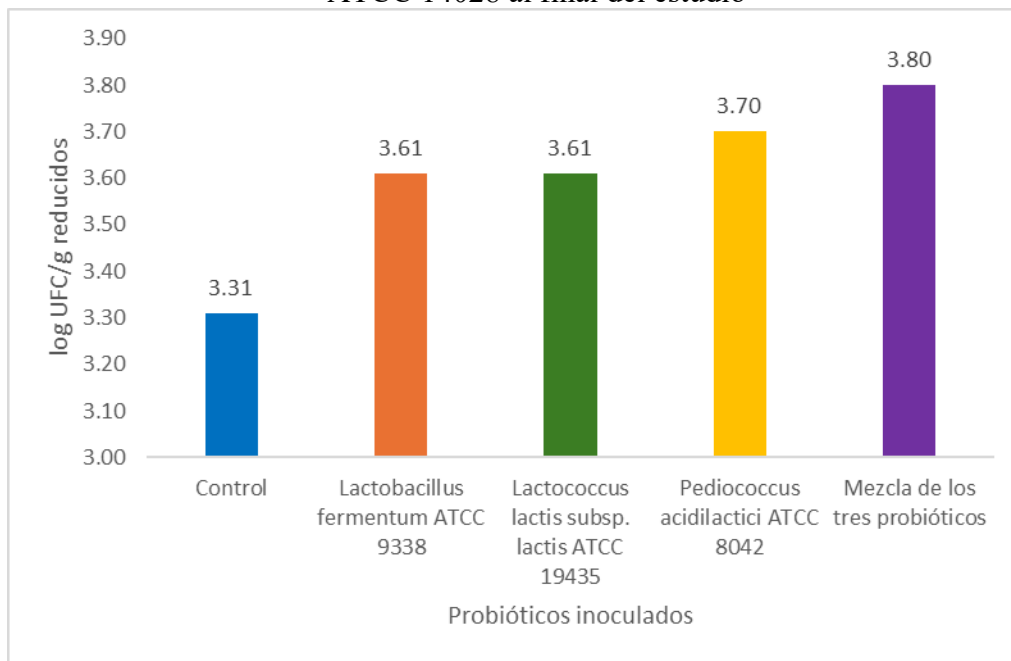
En la Figura 17 se presenta el comportamiento de los recuentos promedio de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 en los quesos frescos elaborados con cada uno de los tratamientos. Es posible apreciar que se tuvo una disminución a lo largo del tiempo en los recuentos del patógeno; sin embargo, al finalizar el tiempo del estudio, la curva crece nuevamente. Se puede observar que el tratamiento que tuvo una mayor reducción fue la mezcla de los tres probióticos.

Cuadro 13. Recuento promedio de log UFC/g de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 los quesos frescos contaminados a lo largo del tiempo de experimentación

Tiempo (horas)	Tratamientos				
	Control	<i>Lb. fermentum</i> ATCC 9338	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	Mezcla de probióticos
0	9.80 ± 1.13	9.80 ± 1.13	9.80 ± 1.13	9.80 ± 1.13	9.80 ± 1.13
0.5	6.30 ± 1.84	6.35 ± 1.91	6.45 ± 1.63	6.13 ± 1.91	6.63 ± 2.62
24	6.42 ± 2.01	6.00 ± 1.41	6.60 ± 1.41	6.39 ± 1.54	6.39 ± 1.54
96	6.63 ± 1.63	5.90 ± 1.34	5.96 ± 1.67	6.30 ± 1.84	6.65 ± 1.35
240	6.02 ± 1.44	5.95 ± 1.36	6.19 ± 1.01	6.50 ± 0.71	6.22 ± 1.30
312	6.48 ± 0.74	6.25 ± 0.92	6.24 ± 1.33	6.04 ± 1.47	6.28 ± 0.96
552	6.50 ± 0.92	6.19 ± 0.83	6.10 ± 1.13	6.19 ± 1.01	6.00 ± 0.99

En el Cuadro 13 se encuentran las unidades logarítmicas para cada uno de los tratamientos con su respectiva desviación estándar, para cada uno de los días, pudiendo apreciar que se obtuvieron fluctuaciones en los recuentos realizados a lo largo del tiempo del experimento.

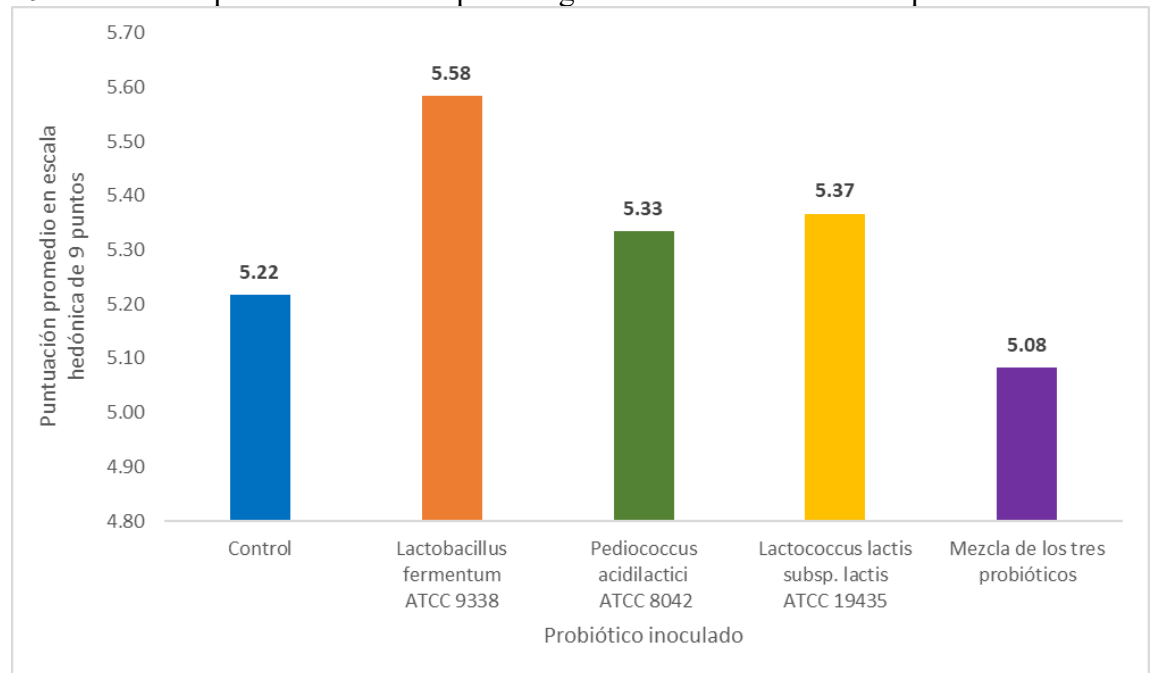
Figura 18. Unidades logarítmicas reducidas promedio de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 al final del estudio



En la Figura 18 se encuentran las unidades logarítmicas reducidas para cada uno de los tratamientos, en donde se puede observar que la mezcla de los tres probióticos fue la que redujo más unidades logarítmicas, mientras que los probióticos que tuvieron una reducción menor, en comparación con el queso control, fueron los quesos tratados con *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435.

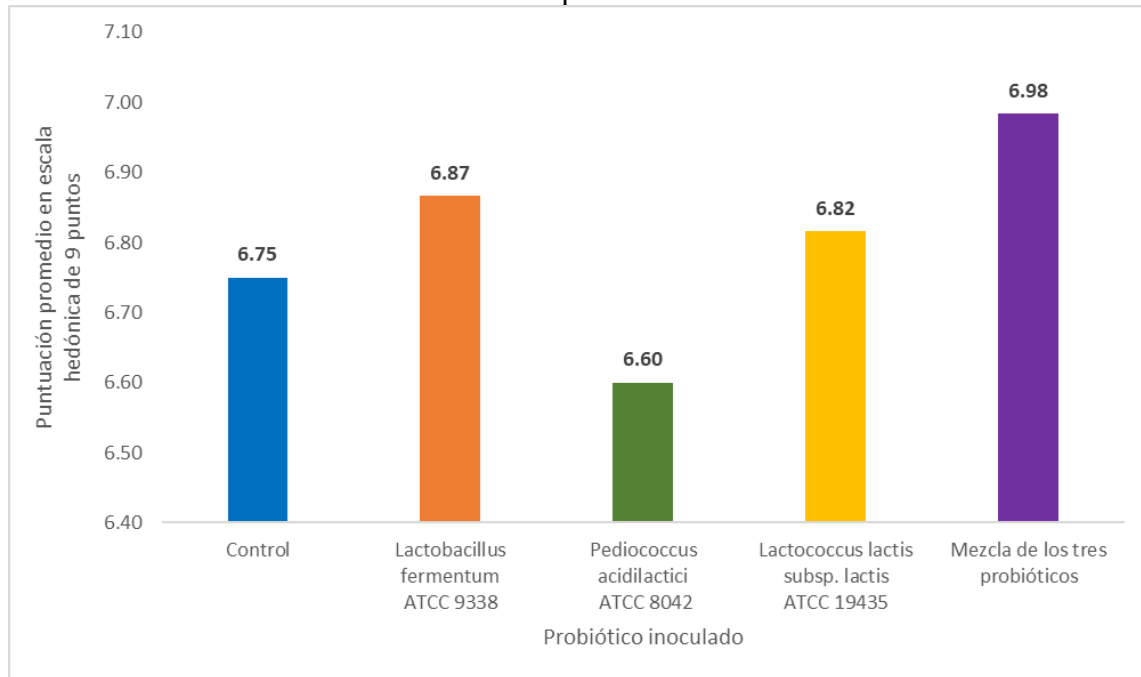
E. Aceptación sensorial de los quesos frescos

Figura 19. Puntuación promedio de la aceptación general de las muestras de queso fresco



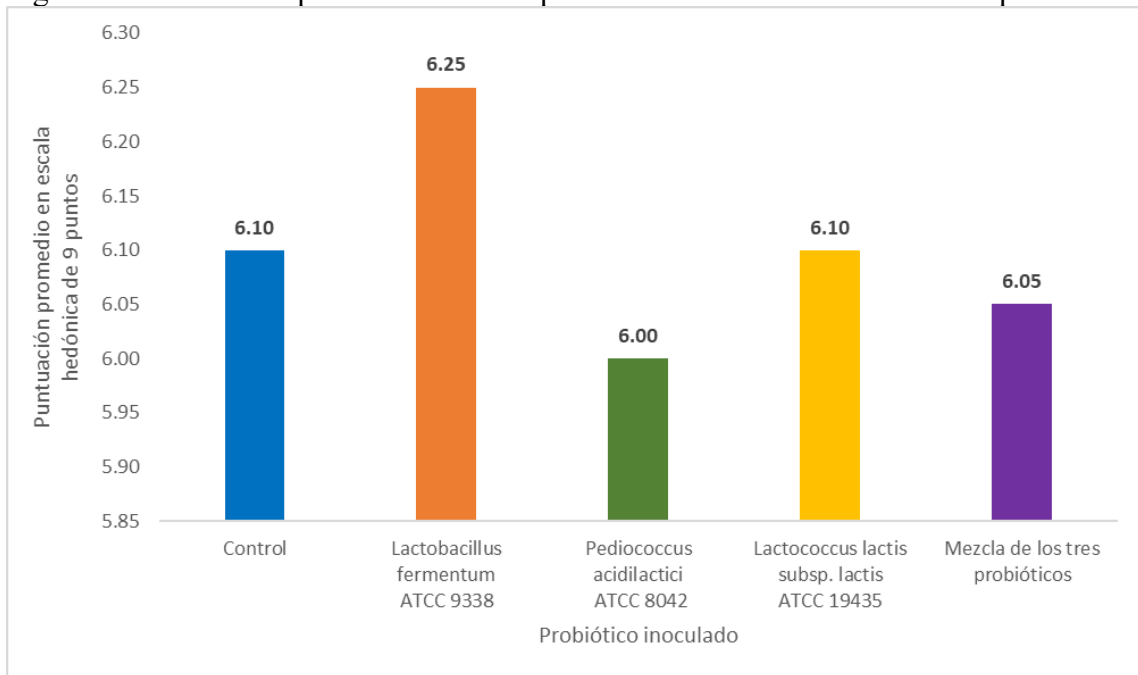
En la Figura 19 se muestra la aceptación general obtenida para cada una de las muestras de queso fresco evaluadas en el panel sensorial. Es posible apreciar que el queso inoculado con el probiótico *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 fue el que obtuvo una mayor puntuación promedio, con un valor de 5.58. Asimismo, se pudo determinar que los quesos elaborados con *Lactococcus lactis subsp. lactis* ATCC 19435 y *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 fueron los que obtuvieron las siguientes calificaciones más altas, las cuales fueron de 5.37 y 5.33; por otro lado, la aceptación general promedio del queso control fue de 5.22. Finalmente, el queso inoculado con mezcla de los tres probióticos tuvo el valor más bajo de aceptación, el cual fue de 5.08.

Figura 20. Puntuación promedio de la aceptación del color de las muestras de queso fresco



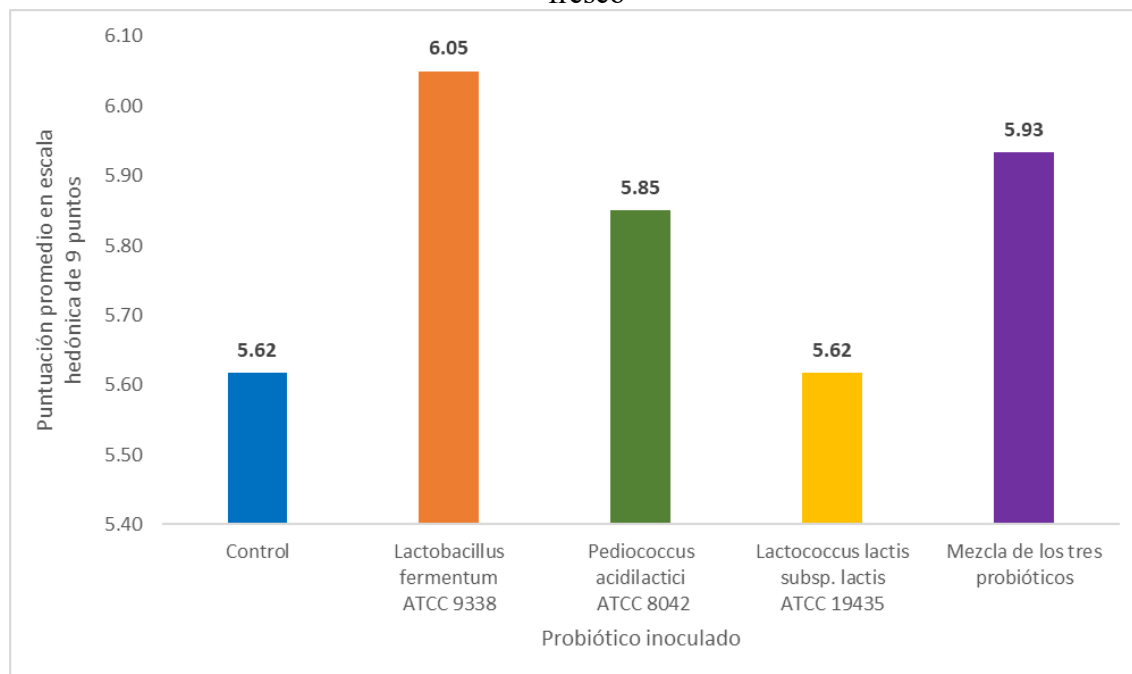
Ahora, en la Figura 20 se observa la aceptación promedio del color de las muestras de queso fresco, en donde la muestra con la mezcla de los tres probióticos obtuvo la mejor calificación con 6.98, seguido por el queso inoculado con *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338. Por otro lado, la muestra de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435 y la control tuvieron una calificación de 6.82 y 6.75, respectivamente. Se puede apreciar que el queso inoculado con *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 fue el que obtuvo la puntuación más baja para el atributo de color, la cual fue de 6.60.

Figura 21. Puntuación promedio de la aceptación del olor de las muestras de queso fresco



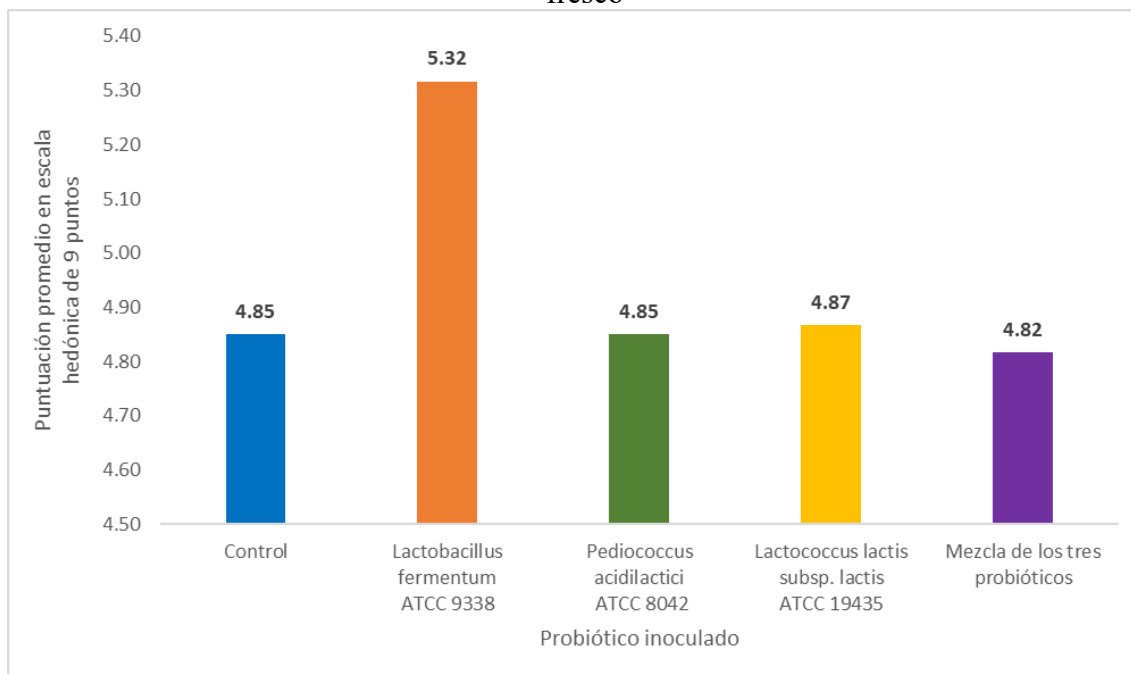
En la Figura 21 se presentan los resultados sobre la aceptación del olor de las muestras de queso presentadas; es posible apreciar que el queso mejor evaluado fue el que contenía el probiótico *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338, pues obtuvo una puntuación de 6.25. De igual manera, se puede observar que el queso control y el que fue inoculado con *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435 poseen la misma calificación para este atributo: 6.10. Por otra parte, la muestra de queso que tenía la mezcla de probióticos y la que contenía *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 fueron las que tuvieron puntuaciones más bajas, con 6.05 y 6.00, respectivamente.

Figura 22. Puntuación promedio de la aceptación de la textura de las muestras de queso fresco



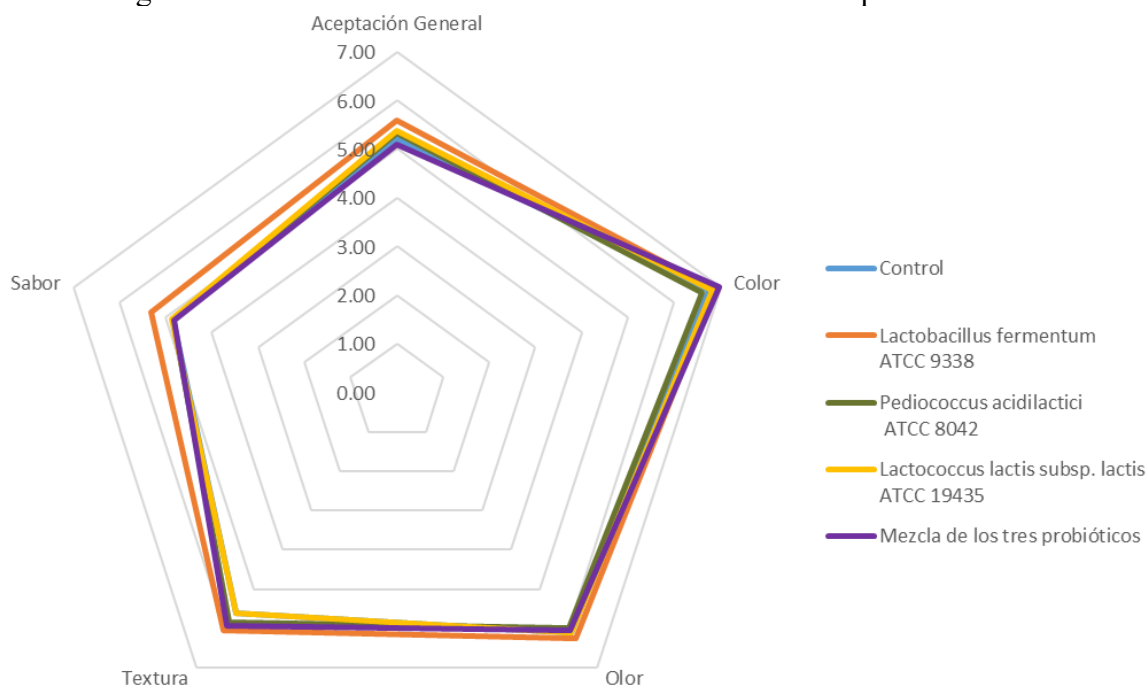
Las puntuaciones promedio para el atributo de la textura son presentados en la Figura 22. Se puede ver que la muestra de queso fresco con *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 fue la mejor evaluada, presentando una calificación de 6.05. La muestra inoculada con la mezcla de los tres probióticos fue la segunda puntuación más alta, con 5.93, siguiéndole el queso fresco inoculado con *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 con una puntuación promedio de 5.85. Finalmente, las dos muestras que obtuvieron la calificación más baja para este atributo fueron el queso control y el queso con *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435 con una valoración promedio de 5.62 para ambas.

Figura 23. Puntuación promedio de la aceptación del sabor de las muestras de queso fresco



En la Figura 23, se aprecian las puntuaciones promedio del atributo del sabor para cada una de las muestras. La valoración más alta fue obtenida por el queso elaborado con *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338, con una puntuación de 5.32. La segunda muestra mejor evaluada fue la que contenía *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435, teniendo una calificación de 4.87. Por otro lado, el queso control y el que fue inoculado con *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 tuvieron la misma calificación para este atributo, la cual fue de 4.85. Por último, la muestra con la valoración más baja fue la mezcla de los tres probióticos, con un promedio de 4.82.

Figura 24. Distribución de los atributos sensoriales de los quesos frescos



La distribución de los atributos sensoriales es demostrada en la Figura 24; acá puede apreciarse, de manera resumida, que la muestra del queso fresco inoculada con el probiótico *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 fue el que tuvo una mejor evaluación para los atributos de sabor, aceptación general, textura y olor. Por otro lado, se puede destacar que el queso fresco con la muestra de probióticos fue la mejor evaluada para el atributo de color. Asimismo, es posible observar que el atributo que recibió las mejores calificaciones fue el color, seguido por el olor y la textura, finalizando con la aceptación general y el sabor.

Cuadro 14. Análisis de varianza (ANOVA) unifactorial para evaluar los atributos sensoriales comparando los diferentes probióticos inoculados al queso fresco

Parámetro	Valor p	Resultado
Aceptación general	0.722	Se rechaza la hipótesis nula.
Color	0.809	Se rechaza la hipótesis nula.
Olor	0.942	Se rechaza la hipótesis nula.
Textura	0.619	Se rechaza la hipótesis nula.
Sabor	0.601	Se rechaza la hipótesis nula.

Nota: La hipótesis nula y alternativa se encuentran establecidas en la sección VI. A de este documento. Se utilizó un valor de significancia (α) igual a 0.05.

En el Cuadro 14 se presentan los resultados del ANOVA elaborado para la aceptación general, color, olor, textura y sabor de los quesos frescos, rechazándose la hipótesis nula para cada uno de estos atributos, lo que indica que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de estos parámetros.

Figura 25. Comparaciones múltiples de medias para evaluar las diferencias de la aceptación general de los quesos frescos elaborados

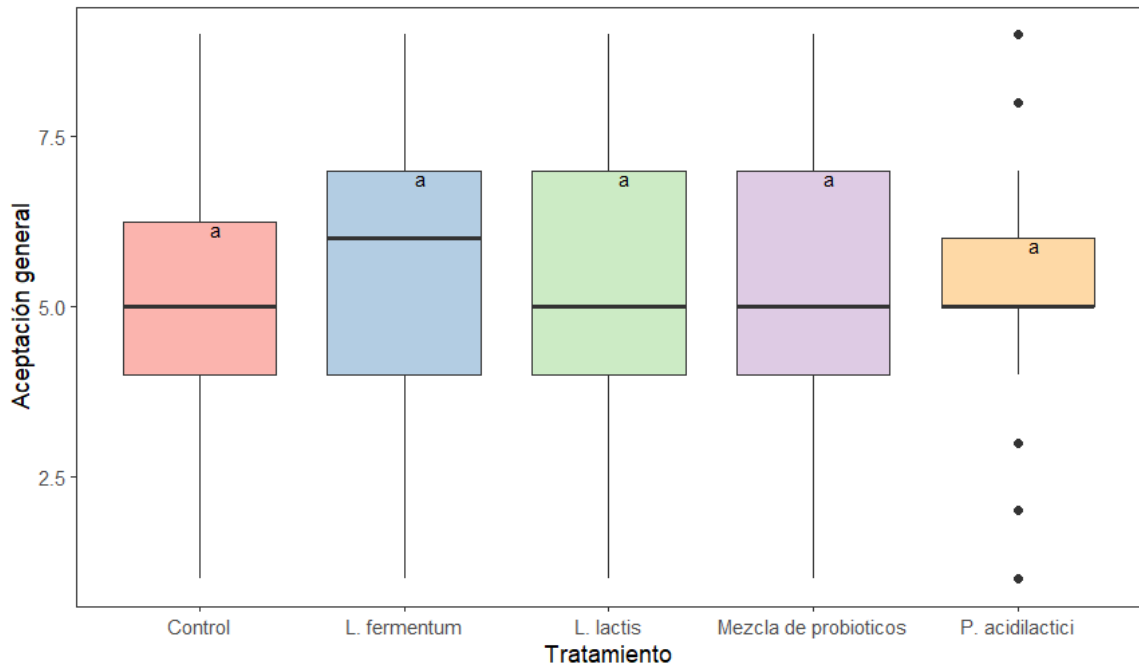


Figura 26. Comparaciones múltiples de medias para evaluar las diferencias del color de los quesos frescos elaborados

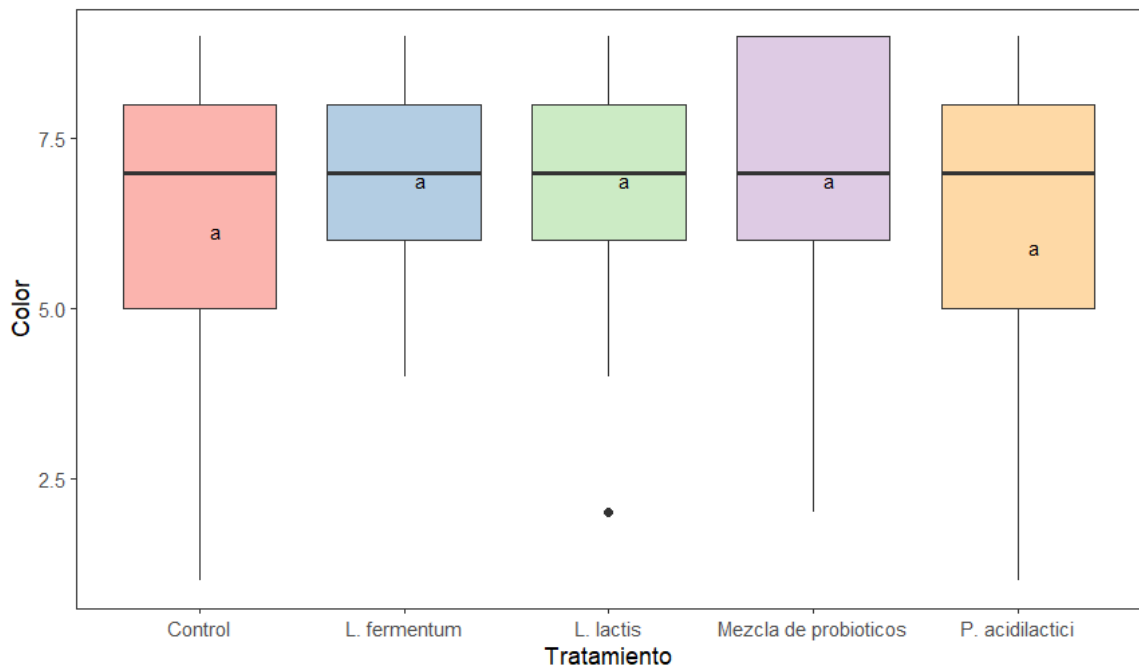


Figura 27. Comparaciones múltiples de medias para evaluar las diferencias del olor para los quesos frescos elaborados

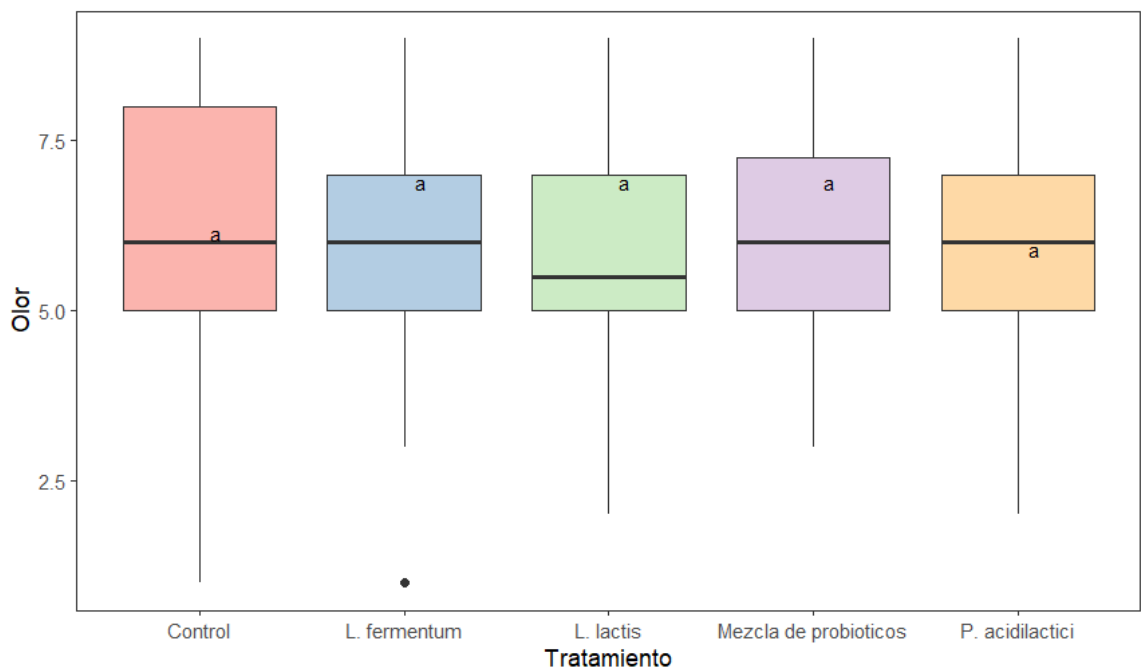


Figura 28. Comparaciones múltiples de medias para evaluar las diferencias de la textura para los quesos frescos elaborados

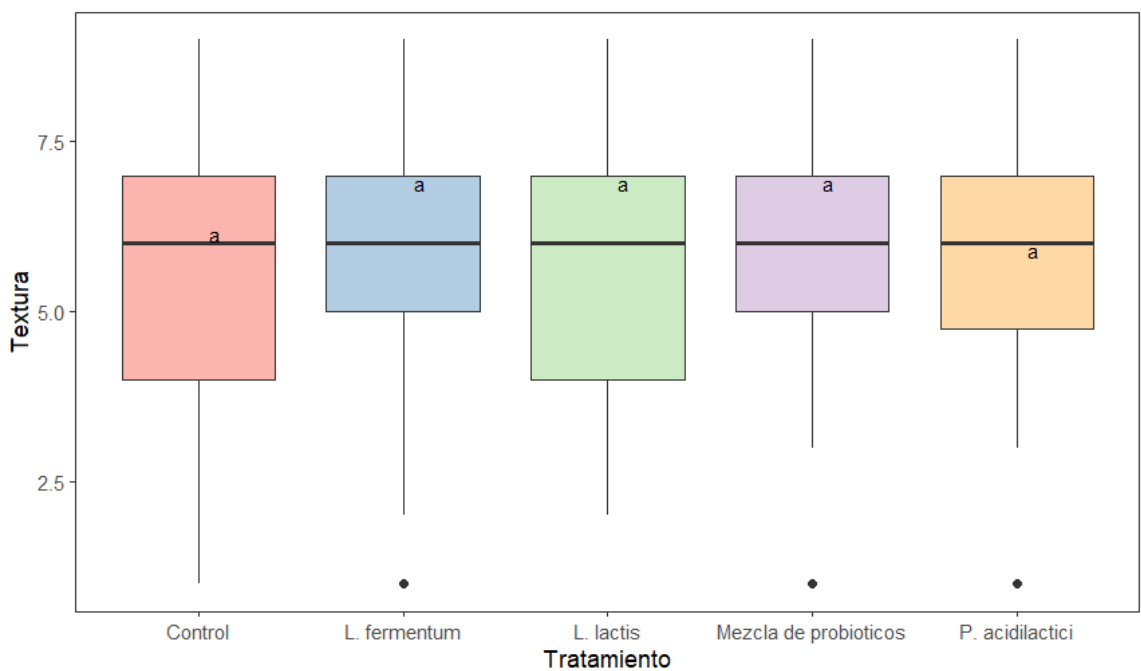
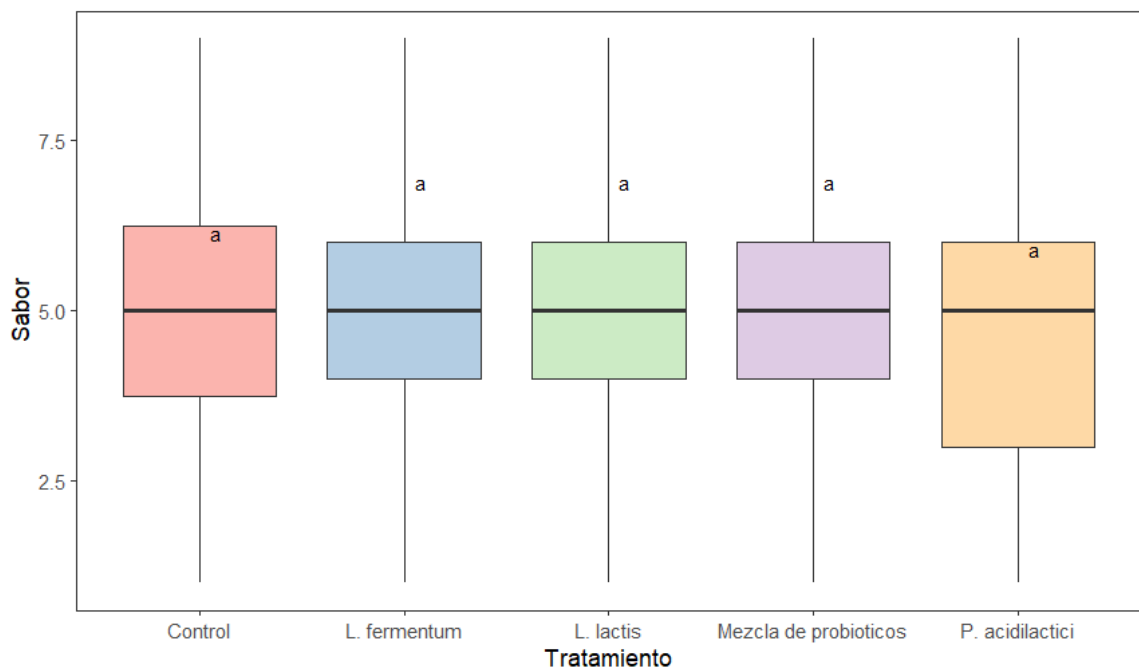


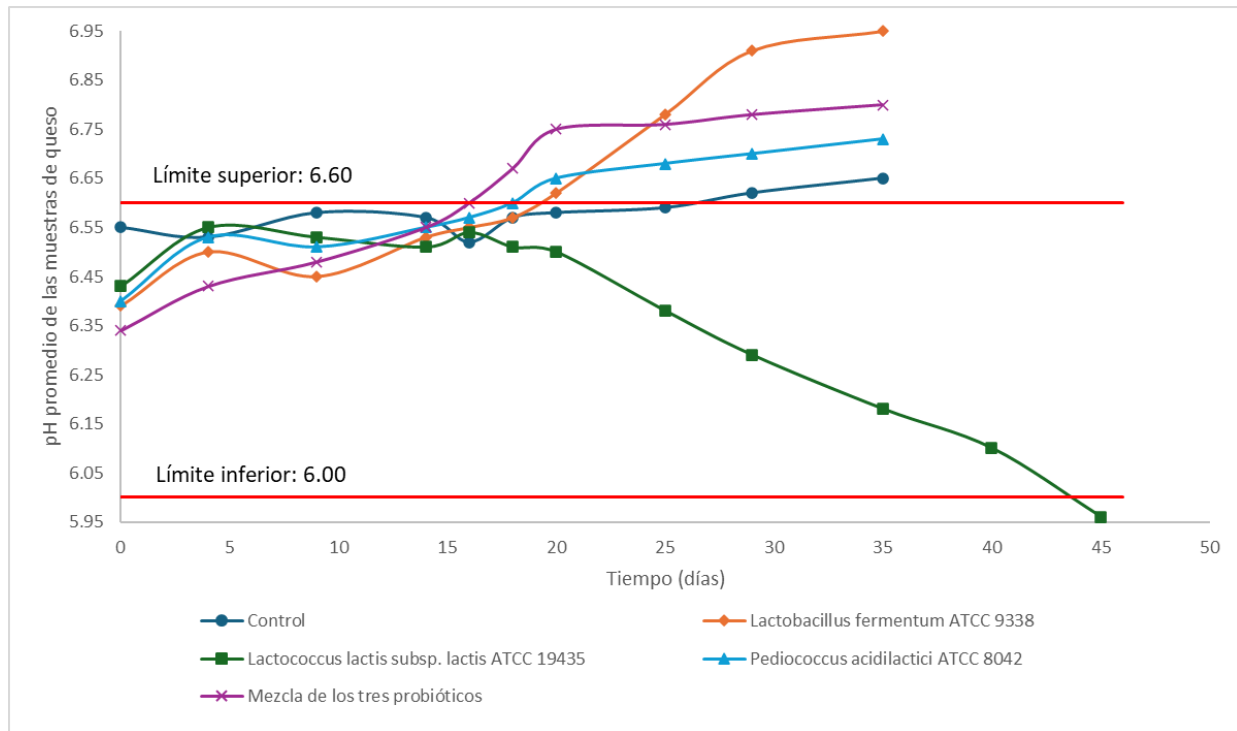
Figura 29. Comparaciones múltiples de medias para evaluar las diferencias del sabor para los quesos frescos elaborados



En las Figuras 25-29 se presentan las pruebas de Tukey elaboradas para cada uno de los atributos sensoriales evaluados: aceptación general, color, olor, textura y sabor. Su interpretación se abarcará en la sección IX. E. del presente documento.

F. Estudio de vida útil

Figura 30. Comportamiento del pH promedio a lo largo de la vida útil de los quesos frescos



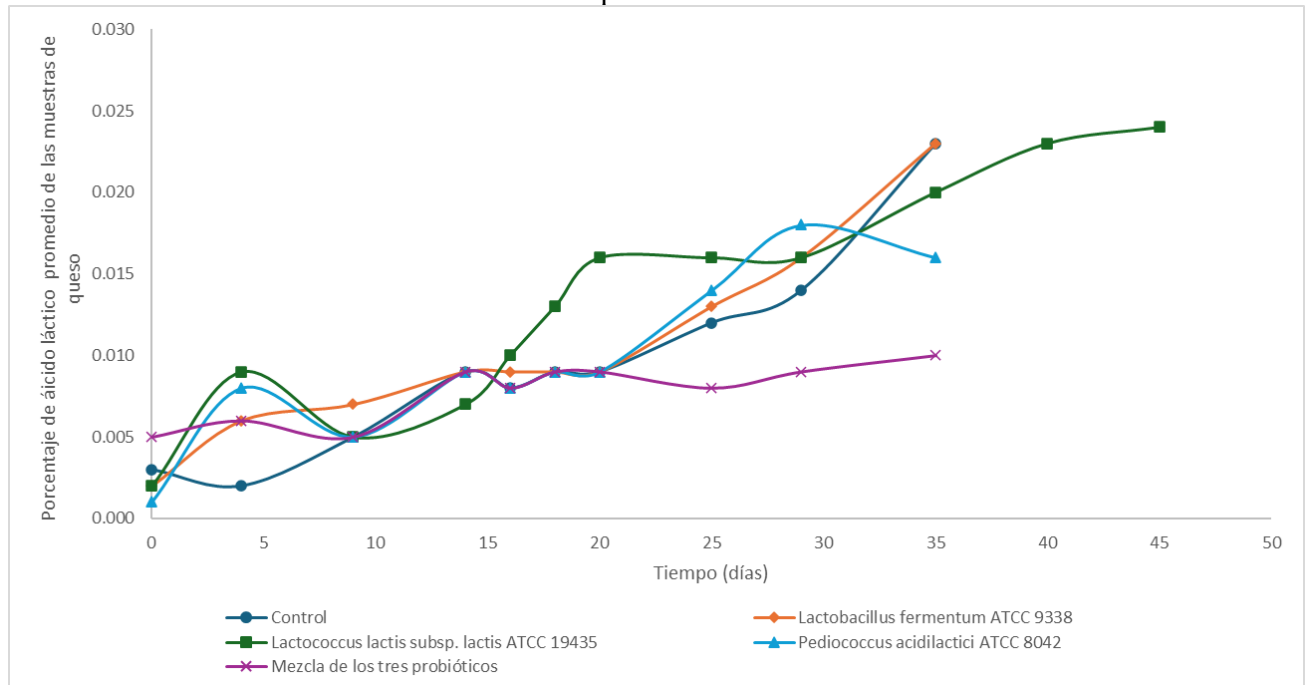
En la Figura 30 es posible apreciar los resultados de pH obtenidos a lo largo de la medición de vida útil; se puede observar que el pH de casi todas las muestras fue en aumento a lo largo del tiempo, considerando el fin de la vida útil cuando se sobrepasaba el límite superior establecido para este parámetro, el cual fue de 6.60. Se puede destacar que el pH final más alto lo tuvo el queso inoculado con *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 (6.95), seguido por el queso que contenía la mezcla de tres probióticos (6.80), el queso inoculado con *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 (6.73) y, finalmente la muestra control (6.65). Sin embargo, puede apreciarse que *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435 tuvo un comportamiento distinto, pues su pH disminuyó a lo largo del tiempo, culminando su vida útil cuando sobrepasó el límite inferior impuesto de 6.00.

Cuadro 15. Valores de pH promedio a lo largo del estudio de vida útil

Tiempo (días)	Tratamientos				
	Control	<i>Lb. fermentum</i> ATCC 9338	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	Mezcla de probióticos
0	6.55 ± 0.02	6.39 ± 0.02	6.40 ± 0.02	6.43 ± 0.01	6.34 ± 0.02
4	6.53 ± 0.06	6.50 ± 0.01	6.53 ± 0.02	6.55 ± 0.01	6.48 ± 0.01
9	6.58 ± 0.00	6.45 ± 0.02	6.51 ± 0.02	6.51 ± 0.01	6.43 ± 0.02
14	6.57 ± 0.04	6.53 ± 0.02	6.50 ± 0.01	6.53 ± 0.01	6.55 ± 0.01
16	6.53 ± 0.03	6.55 ± 0.06	6.39 ± 0.02	6.54 ± 0.03	6.60 ± 0.00
18	6.57 ± 0.03	6.57 ± 0.03	6.57 ± 0.04	6.51 ± 0.04	6.67 ± 0.06
20	6.58 ± 0.01	6.62 ± 0.01	6.60 ± 0.03	6.50 ± 0.01	6.75 ± 0.06
25	6.59 ± 0.05	6.78 ± 0.01	6.65 ± 0.06	6.38 ± 0.01	6.76 ± 0.06
29	6.62 ± 0.00	6.91 ± 0.06	6.68 ± 0.01	6.29 ± 0.07	6.78 ± 0.01
35	6.65 ± 0.04	6.95 ± 0.04	6.73 ± 0.03	6.18 ± 0.03	6.80 ± 0.02
40	-	-	-	6.10 ± 0.01	-
45	-	-	-	5.96 ± 0.01	-

En el Cuadro 15 se encuentran los valores promedio de pH para cada uno de los tratamientos con su respectiva desviación estándar, para cada uno de los días, pudiendo apreciar que se obtuvieron fluctuaciones en las mediciones realizadas a lo largo del tiempo del experimento. De igual manera, se puede apreciar que las desviaciones estándar que se obtuvieron fueron bajas. Las casillas que cuentan con el signo “-“ indican que la medición ya no fue realizada debido a que se había culminado el tiempo de vida útil.

Figura 31. Comportamiento del contenido de ácido láctico promedio a lo largo de la vida útil de los quesos frescos



En la Figura 31, se presenta el comportamiento del contenido de ácido láctico en cada uno de los quesos analizados, observando que se tienen fluctuaciones a lo largo de la vida útil, sin embargo, al final de esta, casi todos presentan un aumento de este compuesto. En esta gráfica no se muestran límites debido a que los valores tomados como referencia que fueron establecidos en la sección VII F. 2. del presente documento son más altos de los obtenidos en este experimento.

Cuadro 16. Porcentaje de ácido láctico promedio a lo largo del estudio de vida útil

Tiempo (días)	Tratamientos				
	Control	<i>Lb. fermentum</i> ATCC 9338	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	Mezcla de probióticos
0	3.00*10 ⁻³ ± 1.59*10 ⁻³	2.00*10 ⁻³ ± 6.36*10 ⁻⁴	1.00*10 ⁻³ ± 3.18*10 ⁻⁴	2.00*10 ⁻³ ± 3.18*10 ⁻⁴	5.00*10 ⁻³ ± 1.27*10 ⁻³
4	2.00*10 ⁻³ ± 3.18*10 ⁻⁴	6.00*10 ⁻³ ± 1.91*10 ⁻³	8.00*10 ⁻³ ± 1.27*10 ⁻³	9.00*10 ⁻³ ± 0.00	6.00*10 ⁻³ ± 1.91*10 ⁻³
9	5.00*10 ⁻³ ± 6.36*10 ⁻⁴	7.00*10 ⁻³ ± 6.36*10 ⁻⁴	5.00*10 ⁻³ ± 0.00	5.00*10 ⁻³ ± 0.00	5.00*10 ⁻³ ± 0.00
14	9.00*10 ⁻³ ± 0.00	9.00*10 ⁻³ ± 0.00	9.00*10 ⁻³ ± 0.00	7.00*10 ⁻³ ± 3.18*10 ⁻³	9.00*10 ⁻³ ± 0.00
16	8.00*10 ⁻³ ± 7.07*10 ⁻⁴	9.00*10 ⁻³ ± 7.71*10 ⁻⁴	8.00*10 ⁻³ ± 7.07*10 ⁻⁴	1.00*10 ⁻² ± 1.14*10 ⁻³	8.00*10 ⁻³ ± 1.14*10 ⁻³
18	9.00*10 ⁻³ ± 0.00	9.00*10 ⁻³ ± 0.00	9.00*10 ⁻³ ± 1.41*10 ⁻³	1.30*10 ⁻² ± 2.83*10 ⁻³	9.00*10 ⁻³ ± 4.24*10 ⁻³
20	9.00*10 ⁻³ ± 0.00	9.00*10 ⁻³ ± 0.00	9.00*10 ⁻³ ± 0.00	1.60*10 ⁻² ± 3.18*10 ⁻³	9.00*10 ⁻³ ± 2.31*10 ⁻²
25	1.20*10 ⁻² ± 0.00	1.30*10 ⁻² ± 2.12*10 ⁻³	1.40*10 ⁻² ± 2.83*10 ⁻³	1.60*10 ⁻² ± 2.83*10 ⁻³	8.00*10 ⁻³ ± 2.83*10 ⁻³
29	1.40*10 ⁻² ± 2.83*10 ⁻³	1.60*10 ⁻² ± 2.83*10 ⁻³	1.80*10 ⁻² ± 1.41*10 ⁻³	1.60*10 ⁻² ± 0.00	9.00*10 ⁻³ ± 1.41*10 ⁻³
35	2.30*10 ⁻² ± 3.54*10 ⁻³	2.30*10 ⁻² ± 1.14*10 ⁻³	1.60*10 ⁻² ± 0.00	2.00*10 ⁻² ± 4.23*10 ⁻³	1.00*10 ⁻² ± 0.00
40	-	-	-	2.30*10 ⁻² ± 7.07*10 ⁻⁴	-
45	-	-	-	2.40*10 ⁻² ± 0.00	-

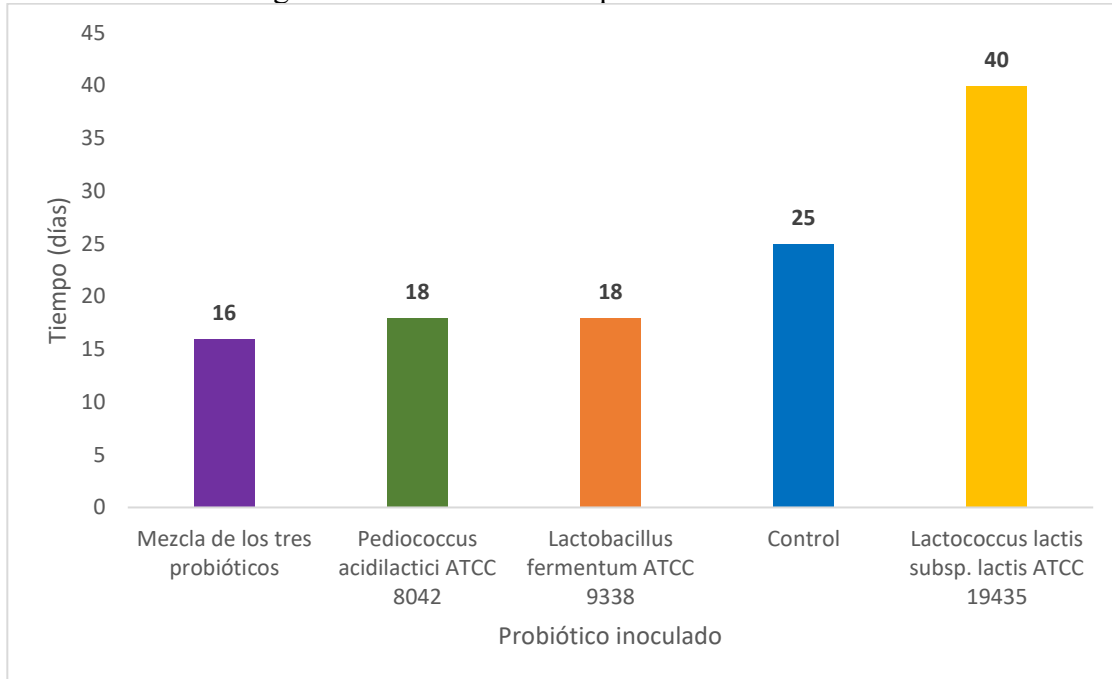
En el Cuadro 16 se encuentran los valores promedio de porcentaje de ácido láctico para cada uno de los tratamientos con su respectiva desviación estándar, para cada uno de los días, pudiendo apreciar que se obtuvieron fluctuaciones en las mediciones realizadas a lo largo del tiempo del experimento. De igual manera, se puede apreciar que las desviaciones estándar que se obtuvieron fueron bajas. Las casillas que cuentan con el signo “-“ indican que la medición ya no fue realizada debido a que se había culminado el tiempo de vida útil.

Cuadro 17. Propiedades sensoriales de los quesos al inicio y final de la vida útil

Muestra	Propiedades sensoriales Inicio de vida útil	Propiedades sensoriales Final de vida útil
Mezcla de los tres probióticos	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.	Aroma a etanol, poca presencia de suero, color amarillo intenso y textura blanda.
<i>Pediococcus acidilactici</i> ATCC 8042	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.	Aroma a fermentado, color amarillento, mucha presencia de suero y textura blanda.
<i>Lactobacillus fermentum</i> ATCC 9338	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.	Color amarillo, textura firme, sin aroma lácteo, aroma a leve a vinagre y mucha presencia de suero.
Control	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.	Color amarillo fuerte, presencia de suero, aroma fuerte a fermentado y textura suave.
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.	Color amarillo, textura firme, sin aroma lácteo, aroma leve a vinagre y presencia de suero.

Las propiedades sensoriales de los quesos elaborados al inicio y final de su vida útil se presentan en el Cuadro 17; se puede apreciar que todos presentaban las mismas características sensoriales al inicio de su vida útil, sin embargo, al final de esta todos presentaron distintos cambios, pues se presentaron variaciones en la textura de los quesos, la cantidad de suero presente (sinéresis) y los aromas. Se puede observar que, al final de su tiempo de vida, el color de todos los quesos se tornó amarillo.

Figura 32. Vida útil de los quesos frescos elaborados



En la Figura 32 se presentan los tiempos de vida útil de cada tratamiento, en donde se puede observar que el queso con menos vida útil fue el que contenía la mezcla de los tres probióticos, mientras que el menos percedero fue el que contenía el probiótico *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435, presentando un tiempo de 40 días, aumentando 15 días de vida útil al comparar con el queso control. Por otro lado, es posible apreciar que los quesos que contenían las cepas *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 y *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 presentaron una reducción de vida útil de 7 días, mientras que la mezcla de los tres probióticos redujo 9 días de tiempo de vida al comparar con el queso control.

IX. Discusión de resultados

A. Control de calidad de la leche y rendimiento del queso

La determinación de la composición de la leche es un proceso crítico en la producción de queso, ya que tiene un impacto en el rendimiento del queso y en la eficiencia del proceso de manufactura (Kalit et al., 2021). Para el porcentaje de grasa, es posible apreciar que se obtuvo un valor promedio de 3.30 % (ver Cuadro 5). De acuerdo con la norma COGUANOR NGO 34 041: “Leche de vaca, pasteurizada, fresca, ultra alta temperatura (UHT) y esterilizada, homogeneizada. Especificaciones”, el porcentaje de grasa en la leche no debe ser menor a 3.00 %, por lo que, es posible ver, que se cumple con este límite inferior establecido. La grasa de la leche es uno de los componentes que es parcialmente responsable por el sabor, aroma y textura del queso, además de impactar en el rendimiento (Kalit et al., 2021).

Asimismo, en el Cuadro 5 se puede observar la densidad promedio de la leche, la cual fue de 1031.30 g/L; se ha encontrado que la densidad de la leche fluctúa entre el rango de 1025-1035 g/L, pudiendo apreciar que valor obtenido se encuentra dentro de este intervalo. La densidad se ve afectada por el contenido de sólidos no grasos y de grasa, sin embargo, también depende de otros factores como la temperatura. Este parámetro es importante en la industria láctea puesto que permite estimar relaciones de peso/volumen (Parmar et al., 2020).

De igual forma, en el Cuadro 5 se presenta el porcentaje promedio de sólidos no grasos en la leche utilizada, el cual fue de 8.68 %. El contenido de estos sólidos no debe ser menor a 8.50 %, por lo que se puede establecer que se cumple con este límite inferior (Manglik, 2024). Los sólidos no grasos están compuestos por proteínas 36-38 % (principalmente caseína), lactosa 56 % y minerales 6 %, tales como el hierro, fósforo, magnesio, potasio y calcio. Este parámetro también tiene un efecto en el rendimiento del queso (López, Sepúlveda y Restrepo, 2010).

El contenido promedio de proteína fue de 3.11 % (ver Cuadro 5); la cantidad de proteína que tiene la leche se encuentra usualmente en 3.10 %, por lo que puede decirse que la leche utilizada para la experimentación tenía el contenido adecuado de este macronutriente (Cunningham, 2011). Las principales proteínas que se encuentran dentro de la leche son la caseína, lactoalbúmina y lactoglobulina; la proteína de este alimento tiene un alto valor biológico debido a que contiene 8 aminoácidos esenciales (Buttriss, 2003). El rendimiento en el proceso del queso depende de la concentración de grasa y proteína, por lo que su contenido en la leche es importante (Guinee, O’ Kennedy y Kelly, 2006).

Ahora, en el Cuadro 6, se presenta el pH promedio de la leche, obteniendo un valor de 6.55. Se ha reportado que el pH de la leche bovina usualmente se encuentra entre 6.5-6.7, pudiendo observar que el valor obtenido se encuentra dentro de este rango (González, 2013). El pH disminuye con el incremento de temperatura, pues se dan cambios en el sistema buffer de la leche (McCarthy, 2002).

También, en el Cuadro 6, se presenta la acidez titulable, reportada como porcentaje de ácido láctico y los grados Dornic de la leche, obteniendo valores de $1.45 \cdot 10^{-2} \%$ y 1.61, respectivamente. Para la acidez titulable, se ha reportado que esta se encuentra en un rango de 0.14-0.18 % en la leche fresca (Gotardi et al., 2022), mientras que el rango usual de grados Dornic es de 14-18 °D (Pinheiro et al., 2022). Se puede observar que ambos valores obtenidos durante la experimentación se encuentran fuera de este rango, pues estos son bastante bajos. Sin embargo, se ha reportado que, existen variaciones en el contenido de ácido láctico de la leche, entre 0.01-0.25 % (1-25 °D) (Goyal, Veena y Kumar, 2023).

Ambos parámetros indican el nivel de acidez de la leche, la cual se determina para establecer el nivel de frescura y la calidad de esta, pues también puede ser indicador de la actividad microbiológica, ya que la acidez incrementa por la presencia de bacterias que transforman la lactosa en ácido láctico (Anjum et al., 2014; Schmidt et al., 1996). Al evaluar los resultados obtenidos, puede establecerse que la leche utilizada es bastante fresca y la actividad microbiana que ha sufrido es mínima. La acidez titulable también indica la capacidad buffer de la leche entre el pH inicial y el punto en el que la fenolftaleína cambia a color rosa. Los fosfatos, citratos y los grupos ionizables de las proteínas contribuyen a la acidez natural de la leche. Este parámetro fisicoquímico también se ve afectado por la cantidad de muestra tomada, la concentración y cantidad utilizada del indicador y la velocidad de la titulación (Goyal, Veena y Kumar, 2023).

Se determinó la presencia/ausencia de los dos patógenos de investigación (*E. coli* y *Salmonella* spp.) en la leche luego del proceso de pasteurización, en dónde fue posible observar que estos estuvieron ausentes todas las veces que la leche pasteurizada fue analizada previo a la elaboración del queso (ver Cuadro 7). Estos resultados se analizaron de esta manera para asegurarse que, al momento de realizar la experimentación, los quesos únicamente contuvieran la cantidad inoculada de estos dos patógenos. La pasteurización tiene como objetivo extender la vida útil, ya que inactiva todos los patógenos no formadores de esporas y la mayor parte de los microorganismos vegetativos de deterioro, además de inhibir la actividad microbiológica y enzimática (Deak, 2014). *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. pueden ser inhibidos de manera efectiva a través de este tratamiento térmico, así como *Listeria* spp. y *Campylobacter jejuni* (Rabbani et al., 2025). A partir de esto, puede inferirse que el proceso de pasteurización se hizo correctamente, pues se tuvo la ausencia de los dos patógenos de interés.

Se estableció el rendimiento del queso en el Cuadro 8, el cual fue de 12.48 %. Se ha estimado que se requieren aproximadamente 10 litros de leche para hacer un 1 kg de queso, teniendo así un rendimiento del 10 % (Fox et al., 2000). Es posible apreciarse que se tuvo un rendimiento ligeramente mayor al reportado teórico; el rendimiento del queso puede verse afectado por diversos factores como la composición de la leche, las variaciones

genéticas de las proteínas de la leche, el estado de lactancia de la vaca, el recuento de células somáticas, variaciones del clima, los tipos de tratamientos térmicos a los que es sometida la leche y el tipo de coagulante utilizado (El-Gawad y Ahmed, 2011).

Finalmente, se presenta la temperatura promedio de almacenamiento para la leche y los quesos elaborados, la cual fue de 3.94 °C (ver Cuadro 9). Se ha establecido que la temperatura óptima de almacenamiento de productos lácteos es de 4 °C, por lo que se puede apreciar que la temperatura obtenida se encuentra muy cercana a la óptima según la literatura. Se ha demostrado que la temperatura de almacenamiento juega un papel importante, ya que permite mantener las características de calidad de los alimentos y mantener la vida útil, pues influye en la velocidad de las reacciones bioquímicas (Hadawiah, Ab y Azly, 2020).

Es posible apreciar que las desviaciones estándar obtenidas en los resultados presentados en los Cuadros 5-9 son relativamente bajas, lo que indica que los datos están cercanos a la media (Conley, 2024). Además, se ha establecido que una desviación estándar baja indica que los resultados son consistentes (Kozak, 2015).

B. Pruebas de antagonismo y selección de cepas

Como se mencionó en la sección de resultados, las cepas seleccionadas para realizar este experimento fueron *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042, *Lactococcus lactis subsp. lactis* ATCC 19435 y *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338. Los resultados obtenidos por el uso de la cepa *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 pueden atribuirse a la producción de pediocina PA-1 y ácidos orgánicos por parte de este microorganismo; la pediocina se encuentra clasificada como clase IIa de bacteriocina y se ha reconocido que es capaz de inhibir el crecimiento de diversas bacterias deterioradoras de alimentos y de patógenos, tales como *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7 y *Salmonella* spp. (Kho et al., 2024).

Por otra parte, los resultados exhibidos por *Lactococcus lactis subsp. lactis* ATCC 19435 pueden deberse a que es un microorganismo que produce dos bacteriocinas: nisina y lacticina 3147, las cuales no son efectivas ante bacterias Gram negativas (Molloy, Hill, Cotter y Ross, 2011). Sin embargo, los subproductos que produce este probiótico pudieron contribuir a los resultados obtenidos, tales como ácido láctico y acético (Yu et al., 2024).

Lactobacillus fermentum ATCC 9338 produce fermenticinas, peróxido de hidrógeno, ácido láctico y el péptido NQGPLGNAHR, los cuales ejercen actividad bactericida contra patógenos (Naghmouchi et al., 2019; Wei et al., 2025). Asimismo, produce surfactantes, lo que interfiere en la adhesión de los patógenos (de Souza et al., 2020).

Los resultados de halos de inhibición más altos obtenidos para ambos patógenos fueron los producidos por estos tres probióticos anteriormente mencionados, por lo que se utilizaron estos en combinación a través de una inoculación simultánea en el medio de enriquecimiento 1:1. Kaya y Simsek (2020) inocularon simultáneamente las cepas de

Lactococcus lactis y *Pediococcus acidilactici*, encontrando que estas producen bacteriocinas substanciales como pediocina, lactococina y nisina; además, fue posible apreciar que estos probióticos fueron capaces de inhibir *Bacillus cereus* y *S. aureus* en alimentos fermentados. Hasta la fecha, no se han presentado otros estudios en donde se trabaje con alguna otra combinación de las cepas seleccionadas y se evidencie la actividad conjunta de las bacteriocinas de estas en una matriz láctea.

Finalmente, es posible apreciar que la desviación estándar presentada en cada uno de los tratamientos, observando que hubo cepas que presentaron desviaciones bajas (0.03-0.09), lo que indica que los datos se encuentran concentrados en la media y que estos son consistentes. Sin embargo, algunas cepas tuvieron desviaciones estándar altas (0.12-0.47), lo que indica que existe una alta dispersión entre los datos recopilados y que, por lo tanto, son inconsistentes (Kozak, 2015). Esta alta desviación estándar pudo haberse debido a los métodos empleados para la determinación de la actividad antagónica.

C. Reducción en el crecimiento de *Escherichia coli* ATCC 25922

Es posible observar el comportamiento de los recuentos promedio de *Escherichia coli* ATCC 25922 en la Figura 15, además, en la Figura 16 se presenta la cantidad de unidades logarítmicas reducidas para cada uno de los quesos frescos elaborados.

El probiótico que redujo la mayor cantidad de unidades logarítmicas fue *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 con un valor de 4.86 log UFC/g, lo cual puede considerarse una disminución significativa, pudiendo atribuirse a la agregación de péptidos antimicrobianos a lo largo del tiempo, lo que contribuye a su actividad antagonista (Rasheed et al., 2021). Las bacteriocinas producidas por este probiótico han sido reconocidas por tener un amplio rango de inhibición ante patógenos, entre los cuales se incluye a *Escherichia coli* (Meera y Devi, 2021).

De igual manera, *Lactobacillus fermentum* produce compuestos antimicrobianos, principalmente ácidos orgánicos (láctico y acético), peróxido de hidrógeno, etanol, enzimas y las bacteriocinas que fueron previamente mencionadas. Además, produce surfactantes, lo que afecta la adhesión y formación de biofilm de patógenos (de Souza et al., 2020).

Se ha reportado que este probiótico ha reducido la carga de *Escherichia coli* presente en vegetales, disminuyendo 1.6 log UFC/g (Cálix-Lara et al., 2014). Por otro lado, también se ha encontrado que, en pruebas in vitro, *Lactobacillus fermentum* ha logrado reducir 4 log UFC/g en 48 horas (Abramov et al., 2022). Es posible apreciar que los resultados obtenidos se encuentran más cercanos a lo que se obtuvo en las pruebas in vitro. Se debe mencionar que los resultados varían dependiendo de la matriz alimenticia, la actividad de agua y pH del producto final (Min et al., 2017).

Pediococcus acidilactici ATCC 8042 fue el segundo probiótico que redujo más unidades logarítmicas, ya que disminuyó 4.64 log UFC/g. Se ha reconocido la acción de la bacteriocina pediocina, la cual es producida por este microorganismo y pertenece al grupo IIa (Kareem, 2018).

De igual manera, se ha reportado que *Pediococcus acidilactici* posee actividad de peptidoglucano hidrolasas (Ortega, 2019). Asimismo, su alta producción de ácido láctico contribuye a su actividad antagonista; también produce ácido acético y etanol (Mantzourani et al., 2024). Estos ácidos contribuyen a disminuir el pH, haciendo el medio inhabitable para bacterias no deseadas. Este probiótico produce peróxido de hidrógeno y alcaloides, los cuales pueden actuar como compuestos antioxidantes (Kho et al., 2024).

De acuerdo con el estudio realizado por Shapwa (2022), en dónde se estudió el efecto antimicrobiano de *Pediococcus acidilactici* sobre *Escherichia coli* en productos cárnicos, fue posible apreciar que se tuvo una reducción de este patógeno de 2.24 log UFC/g. Se debe destacar que la cantidad de unidades logarítmicas disminuidas fue mayor para el experimento elaborado que en el estudio contra el que se comparó; esto puede deberse a que *Escherichia coli* pudo sufrir más estrés en esta matriz alimentaria por la competencia con el probiótico por los nutrientes disponibles y por la acidificación del medio (Peng et al., 2012; Cálix-Lara et al., 2014).

La cepa *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435 consiguió reducir 4.56 log UFC/g de *Escherichia coli*. Este probiótico es capaz de producir lacticina 3147 y nisina (Khelissa, Chihib y Gharsallaoui, 2020). Sin embargo, la nisina no es capaz de inhibir bacterias Gram negativas por la estructura de la membrana externa y por la capa de peptidoglucano, la cual está compuesta por lipopolisacáridos y glicerofosfolípidos (Suzuki y Suzuki, 2021). Sin embargo, su capacidad de acidificación y consumo de oxígeno del medio pudieron ser los causantes de esta reducción (Nakamura, Morimoto y Kudo, 2015).

Se realizó un estudio en el que se evaluó la reducción de *Escherichia coli* con este probiótico en leche cruda de camello, observando que disminuyeron 4.8 log UFC/g después de 54 horas a 30 °C (Bragason et al., 2020). Es posible notar que la cantidad reducida de este patógeno es menor a la que se presenta en el estudio citado, lo que puede atribuirse a la especificidad de la bacteriocina producida por la cepa utilizada en la experimentación, pues no todos estos péptidos presentarán el mismo poder inhibitorio (Tenea, Hurtado y Ortega, 2018). Asimismo, este resultado pudo haberse visto afectado por la concentración de los metabolitos producidos por este probiótico (Hamdaoui et al., 2024).

Es posible apreciar que la mezcla de probióticos fue el que tuvo el resultado más bajo de disminución de unidades logarítmicas con un valor de 3.88 log UFC/g. Se esperaba que este fuera el tratamiento con mayor reducción por la acumulación de las bacteriocinas producidas por los probióticos, sin embargo, se ha expuesto que puede existir inhibición entre bacterias ácido lácticas: de acuerdo con el estudio conducido por Chapman, Gibson y Rowland (2012), se estableció que *Lactococcus lactis* es capaz de inhibir a *Lactobacillus fermentum*; esto pudo afectar en los resultados obtenidos, pues, al inhibirse entre ellas, se da una baja concentración de metabolitos y la eliminación de compuestos antimicrobianos que puedan contribuir a la actividad antagonista.

Asimismo, puede que *Escherichia coli* fuese más competitiva que los probióticos en este medio, lo que ocasionó que abarcará más espacio en este y que consumiera más nutrientes, haciendo así que su reducción fuese menor (Gomes de Oliveira et al., 2025). Un

factor que debe tomarse en cuenta de igual manera es la autólisis de los probióticos, la cual se activa por factores como el pH; esto produce que se tengan menos células viables que puedan combatir con los patógenos (Zimmerman e Ibrahim, 2021; Chikindas et al., 1993).

Por último, se puede apreciar los resultados del queso control, donde puede observarse que se tuvo una reducción de 3.96 log UFC/g. Este comportamiento es característico de la curva de crecimiento de microbiología: al final, se da una reducción de la carga microbiana por el agotamiento de nutrientes y la acumulación de metabolitos tóxicos, por lo que se da un aumento progresivo de células muertas (Negróni, 2018). El crecimiento de *E. coli* se ve influenciado por la actividad de agua del alimento, pH y la concentración de sal (James, 2017).

Finalmente, en el Cuadro 12 se presentan las desviaciones estándar de los recuentos promedio por cada uno de los días; esta puede considerarse baja para la mayoría de los datos, lo que afianza la confiabilidad y consistencia del método utilizado para este experimento, pues indica que la dispersión de los datos es baja (Rayat, 2018).

D. Reducción en el crecimiento de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

Se puede apreciar el comportamiento de los recuentos promedio de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 en la Figura 17 de la sección de resultados, asimismo, se presenta la cantidad de unidades logarítmicas reducidas para cada uno de los probióticos en la Figura 18.

La cepa que individualmente presentó una mayor disminución del patógeno fue *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042, pues redujo 3.70 log UFC/g al final de la experimentación. Como se expresó con anterioridad, esta cepa produce pediocina PA-1, la cual produce poros en la membrana (Khorshidian et al., 2021). Además, produce una *N*-acetilmuramidasa, la cual promueve la lisis de la célula (García-Cano et al., 2015).

Lactococcus lactis subsp. *lactis* ATCC 19435 redujo 3.61 log UFC/g de *S. typhimurium* al concluir con el experimento. Se ha reportado que este probiótico actúa ante las bacterias Gram negativas a través de la inhibición de la motilidad y consumo de oxígeno del medio (Nakamura, Morimoto y Kudo, 2015; Zhang et al., 2024). Además, la acumulación del peróxido de hidrógeno que produce este microorganismo pudo contribuir a los resultados obtenidos (van Niel, Hofvendahl y Hanh, 2002).

La cepa *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 disminuyó en 3.61 log UFC/g la carga de *Salmonella typhimurium* inoculada en los quesos. Este probiótico secreta sustancias inhibitorias como bacteriocinas, bio surfactantes y peróxido de hidrógeno; asimismo, produce compuestos antimicrobianos llamados fermentocinas (Rasheed et al., 2021). Las fermentocinas son bacteriocinas de clase IIa, las cuales actúan a nivel de la membrana formando poros, produciendo la permeabilización de esta, lo que produce muerte celular (Mondragón et al., 2013).

Este microorganismo también es capaz de aumentar la vida útil a través de la biotransformación de compuestos fenólicos presentes en la matriz alimenticia, lo que puede aumentar el poder antioxidante los alimentos (Cirat et al., 2024). Asimismo, este probiótico tiende a producir dióxido de carbono, lo cual genera un ambiente anaeróbico e inhibe las descarboxilasas por la reducción de pH, afectando así la permeabilidad de la membrana (Crow y Curry, 2002; Palacios, 2019).

Lactobacillus fermentum también produce ácidos orgánicos como ácido láctico, acético, succínico y fórmico (Chen et al., 2021). Esta cepa, de igual manera, produce etanol, lo que presenta un efecto bactericida ante células vegetativas de microorganismos, pues desnaturaliza las proteínas y daña la estructura lipídica del citoplasma (Palacios, 2019).

Es posible apreciar que la mezcla de probióticos fue la que presentó una mayor reducción en este experimento, ya que se disminuyeron 3.80 log UFC/g de la carga del patógeno de estudio. Esto puede atribuirse a la acción de las bacteriocinas presentes por la adición de los tres microorganismos probióticos: la nisina, pediocina PA-1, lacticina 3147 y fermenticina (Pujato et al., 2024; Rasheed et al., 2021). El mecanismo de función de las bacteriocinas es crear poros en la membrana, como fue expresado previamente (Afraei et al., 2025).

Se ha determinado que pueden combinarse las bacteriocinas para que estos funcionen de manera sinérgica; estudios previos han demostrado que al aplicar en conjunto la nisina y pediocina se aumenta su efectividad inhibitoria, además de la presencia de los metabolitos que produce cada una de las cepas, los cuales fueron mencionados antes (Cabo et al., 2009). Además, debido a que hay tres cepas probióticas en el medio, se vuelve un ambiente hostil para *Salmonella typhimurium*, pues la competencia es más fuerte por espacio y nutrientes, lo que también contribuye a la reducción de la población del patógeno (Gomes de Oliveira et al., 2025).

Las cepas probióticas producen exopolisacáridos, los cuales ayudan a mejorar características sensoriales; se ha establecido que estos metabolitos ayudan a inhibir patógenos, ya que previenen la formación de biofilms, adhesión y agregación de estas bacterias (Werning et al., 2022). Los tres microorganismos utilizados generan estos polisacáridos, lo que pudo contribuir, de igual manera, a los resultados obtenidos.

Por último, en la muestra control se presenta la reducción de 3.31 log UFC/g a lo largo del tiempo de experimentación. Esto podría indicar que, al final del estudio, este patógeno ya se encontraba en la fase de senescencia: debido a que las condiciones del medio se vuelven hostiles, la multiplicación de estos microorganismos se ve reducida, por lo que se da una abundancia de células muertas, las cuales ya han perdido la capacidad metabólica (Pumorola et al., 1992).

Fue posible apreciar que se redujeron menos unidades logarítmicas para *Salmonella typhimurium* que para *Escherichia coli*, esto se atribuye a que los probióticos pueden generar sustancias beneficiosas para el crecimiento de este patógeno (Marianelli, Cifani y Pasquali, 2010). Los probióticos también pueden ser menos efectivos ante *S. typhimurium* debido a que los efectos, comúnmente, son específicos de cada cepa, además de que pueden

funcionar bajo condiciones específicas de pH o de anaerobiosis (Juricova et al., 2022). Además, la temperatura y la composición del medio de cultivo poseen un efecto en su capacidad inhibitoria (Chen et al., 2025); de igual forma, afectan los factores físicos como la exposición a la luz solar (Peng et al., 2022). Los tipos de fuente de carbón y nitrógeno, así como su concentración y la aeración son otros aspectos que tienen impacto en el desempeño de las bacteriocinas (Abbasiliasi et al., 2017). Asimismo, se puede apreciar que al final de la vida útil se tiene un incremento del patógeno nuevamente, lo que puede atribuirse a la posible resistencia y tolerancia que generan estos patógenos ante los probióticos (Fredua, Stapleton y Gaisford, 2023).

Finalmente, en el Cuadro 13, se presentan los resultados de los recuentos promedio a lo largo de la experimentación con su desviación estándar. La desviación estándar para los resultados presentados resultó ser alta, además, se obtuvieron fluctuaciones en las mediciones. Esto puede indicar que el método utilizado no es confiable ni consistente, pues los valores obtenidos se encuentran lejanos a la media (Rayat, 2018). Un factor que pudo influir en la fluctuación de los resultados pudo ser la homogeneización de la muestra: se ha demostrado que las bacterias no se distribuyen de manera homogénea en los productos lácteos, lo que se debe a que todos los tipos de microorganismos (iniciadores, no iniciadores, de deterioro y patógenos) se quedan atrapados en la matriz proteica del alimento, lo que ocasiona la distribución aleatoria de las colonias (Hickey et al., 2015).

E. Aceptación sensorial de los quesos frescos

En el Cuadro 14 presentado en la sección de resultados, se puede apreciar que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de los atributos medidos para cada uno de los quesos, lo cual será discutido a continuación.

De acuerdo con lo presentado en la sección de resultados, en las figuras 19 a 24, fue posible apreciar que los quesos frescos inoculados con *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 fueron los que tuvieron las puntuaciones más altas en los atributos de aceptación general, olor, textura y sabor. Este probiótico ha sido añadido en diversos productos alimenticios para mejorar las características sensoriales; en el caso de la textura, se ha encontrado que esta especie produce exopolisacáridos como el dextrano (Akar, 2022), los cuales aumentan la retención de agua, reduciendo así la sinéresis. De igual manera, ayudan a retener más grasa en la estructura del queso (Pakroo et al., 2022; Lluís et al., 2011).

Se ha reportado que este aumento del contenido de agua y grasa afecta la microestructura del queso, lo que produce que tenga cavidades grandes en su estructura interna, las cuales contienen mayores cantidades de agua por las interacciones de los exopolisacáridos con los componentes de la leche. El aumento de contenido de grasa y agua en el queso conlleva a que este sea más suave y cohesivo y menos elástico, lo que puede ser agradable para los consumidores. Esto puede atribuirse a que el aumento de retención tiende a debilitar la estructura proteica por las interacciones hidrofóbicas, las cuales desestabilizan la estructura de la caseína (Lluís et al., 2011). Los exopolisacáridos también mejoran la sensación en boca del alimento y la percepción del sabor (Kongo, 2013).

Lactobacillus fermentum ATCC 9338 es un probiótico que también se caracteriza por su actividad proteolítica, ya que hidroliza los enlaces péptidos que poseen las proteínas, reduce la actividad de agua al enlazarla con los grupos amino y carboxilo liberados, además de aumentar el pH, lo cual afecta directamente la textura (Sudeepa y Bhavini, 2020; Sommers, 2019). De igual manera, este microorganismo impacta el sabor y la textura del queso por la presencia de los compuestos derivados del catabolismo de aminoácidos (principalmente metionina), aminoácidos aromáticos y aminoácidos de cadena ramificada (de Oliveira et al., 2023).

En cuanto al sabor, se ha reconocido que este probiótico puede producir etanol, el cual brinda acidez al alimento (Crow y Curry, 2002a). Además, por la misma proteólisis, se producen aminoácidos como la L-prolina, la cual da un sabor dulce (Cui et al., 2019). Se ha encontrado que también puede producir ésteres etílicos de los ácidos grasos de cadena corta, los cuales producen sabores afrutados (Järvenpää et al., 2007). Esto que se expuso con anterioridad pudo haber sido lo que tuvo un impacto positivo en el sabor y aroma de los quesos inoculados con este probiótico.

También, se ha encontrado que este probiótico produce 2-propanona, 2-metil-propanol, 3-hidroxi-2-butanona, hexanal y 1-hexanol (Järvenpää et al., 2007). La 2-propanona brinda aromas a acetona, mientras que el 2-metil-propanol y el 1-hexanol dan aromas alcohólicos; por otro lado, el 3-hidroxi-2-butanona (acetoina) produce aromas a mantequilla y el hexanal da aromas a fruta verde (Le Quéré y Molimard, 2002). Sin embargo, se debe aclarar que *Lactobacillus fermentum* no se adiciona a menudo en quesos debido a la producción de gas y a los efectos de separación que ocasionan en los mismos (Crow y Curry, 2002a).

Para el atributo de color, esta fue la cepa con la segunda calificación más alta. Se ha encontrado que *Lactobacillus fermentum* puede influir en el color del queso (Järvenpää et al., 2007). Se ha asociado que esta oxidación puede producir coloraciones rosadas en el queso; adicionalmente, se ha propuesto que, compuestos como la tirosina, ácido ascórbico, piruvato y fumarato pueden acelerar este defecto de coloración, así como la presencia de aminoácidos libres (Ferraz, Santos y Serralheiro, 2024). Esto expuesto con anterioridad pudo haber sido lo que influyó en la calificación obtenida para este parámetro.

Por otro lado, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435 fue la cepa que obtuvo la segunda mejor calificación en aceptación general, olor y sabor. Este probiótico ha sido muy utilizado como cultivo iniciador en la industria quesera y se ha demostrado que posee un sistema proteolítico complejo que, junto a otras enzimas, convierte la caseína en péptidos y aminoácidos (Li et al., 2020). *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* puede contener una proteasa llamada lactocepina, la cual puede producir péptidos amargos a través de la degradación de las proteínas superficiales (Coolbear et al., 2002).

Debe mencionarse que este probiótico puede acidificar rápidamente el medio en el que se desarrolla, ya que el metabolito principal que produce es el ácido láctico (Kondrotiene et al., 2024). Se ha encontrado que esta cepa puede mejorar la secreción de compuestos que impactan el aroma, tales como el hexanal, 2-metil-1-propanol, 3-metil-butanol, 2-pentanona, 2-hexanona, 2-heptanona y acetona (Garde et al., 2004). En el caso

del hexanal, este brinda notas verdes similares a las de fruta inmadura; por otro lado, el 2-metil-1-propanol y 3-metil-butanol dan sabores alcohólicos y frutales, mientras que la 2-pentanona, 2-hexanona, 2-heptanona y acetona aportan a dar notas frutales y a queso azul (Le Quéré y Molimard, 2002). Es posible observar que el atributo del olor fue mejor calificado que el sabor del queso inoculado con *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, lo cual pudo haberse debido a la presencia de estos compuestos aromáticos que fueron agradables al consumidor; por otro lado, el sabor pudo haberse visto afectado por la presencia de los péptidos amargos producidos por la lactocepina y por el sabor ácido que aporta el ácido láctico, provocando así que este tuviese una calificación más baja que el olor.

Ahora, en el caso de la textura, se ha demostrado que este probiótico también es capaz de producir exopolisacáridos como el poligalactano (Jurášková, Ribeiro y Silva, 2022), el cual tiene un impacto positivo en la textura (Kondrotiene et al., 2024). Sin embargo, esta cepa tiene actividad proteolítica y conversión de aminoácidos, lo que produce un queso con una menor dureza, dando así una textura suave. De igual forma, se da un aumento en la adhesividad por la misma proteólisis, ya que incrementa la producción de péptidos pequeños en el suero, elevando así la viscosidad; finalmente, se puede dar una reducción en la elasticidad debido a que la red proteica se debilita por la formación de péptidos de bajo peso molecular (Altin et al., 2023).

En cuanto al color, este pudo haberse visto afectado por el pH, pues como se mencionó con anterioridad, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* produce ácido láctico rápidamente, lo que produce un descenso de este parámetro fisicoquímico. Se ha encontrado que los quesos con un pH cercano al punto isoeléctrico de las caseínas exhiben un color blanco por la agregación de las moléculas de caseína (Brickley et al., 2008).

Seguidamente, se puede apreciar que los quesos inoculados con *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 presentaron la tercera mejor calificación para la aceptación general, textura y sabor. *Pediococcus* spp. puede encontrarse en algunos quesos, aunque no se encuentra como la bacteria ácido láctica iniciadora predominante (Crow y Curry, 2002b). Este probiótico produce 2-butanol, 2-butanona, 2-nonanona, 3-metil-butanol y 2-heptanona (Eugster et al., 2019).

El 2-butanol es un alcohol que produce notas a fruta fermentada y dulce (Barron et al., 2005). Por otro lado, el 2-butanona da aromas a acetona, mientras que la 2-nonanona produce notas frutales y rancias y el 2-heptanona da un aroma similar al queso azul (Le Quéré y Molimard, 2002); finalmente, el 3-metil-butanol contribuye al aroma a queso y da notas a malta (Smit, Smit y Engels, 2005). Asimismo, se ha observado que este probiótico produce grandes cantidades de ácido láctico de carbohidratos (Sriphochanart et al., 2011). Sin embargo, se ha reportado que su actividad proteolítica y lipolítica, además de su habilidad de fermentar aminoácidos son igual o más bajas que las que producen las cepas de *Lactobacillus* spp. (Crow y Curry, 2002b). Por esto mismo, expuesto con anterioridad, puede ser que la concentración de compuestos que producen aromas y sabores no deseables en el queso influyeran en la calificación del sabor y olor, pues este último fue el atributo que recibió la puntuación más baja de todas las muestras evaluadas.

Se ha encontrado que la textura de los quesos inoculados con *Pediococcus acidilactici* puede presentar pérdida de dureza por la actividad proteolítica, ya que esta debilita la estructura micelar de la caseína, lo que da una textura más suave (Wang et al., 2022). Adicionalmente, se ha destacado que este probiótico también produce polisacáridos como los betaglucanos (Jurášková, Ribeiro y Silva, 2022). Se ha determinado que la síntesis de estos aumenta conforme disminuye el pH (Abarquero et al., 2022). Se mencionó con anterioridad que esta bacteria produce grandes cantidades de ácido láctico, lo que puede generar un exceso de formación de polisacáridos, los cuales pueden dar matrices viscosas con sensación oleosa; se debe mencionar que esto es característico de los exopolisacáridos producidos *Pediococcus* spp. Esto pudo haber sido percibido por los consumidores, afectando así la calificación de este atributo (Paulo et al., 2012; Dimopoulou y Dols-Lafargue, 2021).

En cuanto al color, ha sido reportado que *Pediococcus acidilactici* no tiene una influencia en este atributo ya que no se ha encontrado diferencia significativa cuando se compara con un queso control (Wang et al., 2022). Por esto mismo, se puede diferir que el color que presentaba esta muestra era debido a la presencia del betacaroteno dentro de la leche, el cual da una coloración amarillenta a la cuajada, cuya intensidad depende del nivel de proteólisis (Ferraz, Santos y Serralheiro, 2024).

Al observar los resultados de la mezcla de probióticos, es posible apreciar que esta fue la que obtuvo las calificaciones más bajas para la aceptación general y sabor, mientras que obtuvo la calificación más alta en color y la segunda más alta en textura. En cuanto al color, debido a la presencia de tres cepas probióticas, se pudo dar una alta producción de ácido láctico, lo cual pudo llevar a la desnaturalización de proteínas por la actividad proteolítica y disolución de membranas por la acidificación, lo que produce que el betacaroteno presente, que se encuentra encapsulado entre glóbulos de grasa y proteínas, sea visible, aportando un color amarillento que pudo haber sido llamativo para el consumidor (Ferraz, Santos y Serralheiro, 2024).

Estudios han reportado que la adición conjunta de probióticos en alimentos produce un sabor ácido prominente debido a la producción de ácido láctico, ya que esta aumenta, lo cual pudo afectar en la calificación brindada al sabor (Balmori et al., 2019). De igual manera, se da la acumulación de compuestos volátiles que producen en común estas cepas, como el hexanal, 2-metil-1-propanol y 2-heptanona, dando así aromas a fruta verde, alcohol y queso azul, respectivamente (Le Quéré y Molimard, 2002), cuya mezcla pudo no ser agradable para el panelista, lo que pudo afectar en la puntuación del aroma y también pudo tener un efecto en el sabor percibido.

En el caso de la textura, se ha demostrado que los tres probióticos producen exopolisacáridos: dextrano, poligalactano y betaglucano; puede ser que la combinación de funcionalidad de estos como la retención de agua, mejoramiento de sensación en boca, disminución de dureza y elasticidad y aumento de adhesividad, viscosidad y cohesión fueran los que confiriesen una textura que resultara agradable para el consumidor (Kongo 2013; Altin et al., 2023).

Con respecto a los resultados del control, es posible apreciar que tuvo puntuaciones bajas para los 5 atributos evaluados (aceptación general, color, olor, textura y sabor). Debido a que este queso no poseía probiótico, el color que presentaba era el brindado por el betacaroteno presente en la leche utilizada para la elaboración del queso, dando así una coloración amarilla (Ferraz, Santos y Serralheiro, 2024). El sabor y olor de este queso es conferido por compuestos orgánicos como 2-propanol, 2-metil-propanol, acetaldehído, propanal, ácido butanoico, ácido hexanoico y acrilato de etilo; el 2-propanol y 2-metil-propanol dan aromas a alcohol y químico, mientras que el acetaldehído y el propanal dan notas pungentes, frescas y verdes; por otro lado, el ácido butanoico y ácido hexanoico confieren aromas a lácteo y rancio y el acrilato de etilo brinda notas frutales (Pluta-Kubica et al., 2022).

Para el atributo de textura, este fue brindado por la caseína, pues en los quesos frescos esta se encuentra completa, por lo que su capacidad emulsificante se mantiene intacta y confiere una textura suave (Bejarano, Sepúlveda y Restrepo, 2016). Asimismo, se ha encontrado que la textura del queso depende del pH y la proporción de caseína intacta presente (Lawrence, Creamer y Gilles, 1986). También se ha reportado que la textura y la dureza del queso está relacionada con diversos componentes químicos a nivel microestructura, las cuales interactúan con la red de proteína mediante agregación y/o interacción con las caseínas, grasa y otros componentes de la leche (Matalaka, Hatta y Baco, 2017).

En las Figuras 25-29 se representan los resultados de la prueba de Tukey llevada a cabo para establecer si existe diferencia estadísticamente significativa para cada uno de los atributos evaluados en este análisis. Para la aceptación general, es posible observar que las cajas cuentan con una altura parecida, lo que representa que existe una dispersión considerable entre los datos, además, se aprecia que las medianas se encuentran similares para casi todos los tratamientos, entre 5 y 6, por lo que se puede inferir que este atributo fue medianamente aceptado por los panelistas. Sin embargo, el tratamiento con *P. acidilactici* resultó tener más variabilidad, pues fue la que exhibió más valores atípicos, lo que puede representar que existieron 3 personas que evaluaron esta muestra por debajo de lo calificado por los participantes y 2 personas que lo calificaron por encima de los demás panelistas. Sin embargo, todos los tratamientos se designan con la letra “a” después de la Prueba de Tukey, lo que representa que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos, es decir, que la valoración de la aceptación general no cambia significativamente con ningún tratamiento probiótico al ser comparado con el control.

Para el color, se aprecia que las medianas de todos los tratamientos se encuentran aproximadamente en el valor de 7, lo que indica una valoración positiva para este atributo entre todas las muestras. Se observa también que la dispersión es considerable en todos los tratamientos, siendo menor en los quesos que poseían *L. fermentum* y *L. lactis* subsp. *lactis*. Existe un valor atípico para este último probiótico, lo que presenta que un panelista le colocó una calificación mucho más baja para este atributo en comparación con los otros evaluadores. Empero, todos los tratamientos se designan con la letra “a”, indicando, nuevamente, que el tratamiento aplicado de probióticos en el queso no produjo diferencia estadísticamente significativa para este atributo.

En el caso del olor, las medianas se concentran entre los valores de 5.5 y 6, lo que representa que este parámetro fue moderadamente aceptado por los evaluadores. La dispersión es mayor para el grupo control, mientras que entre el resto de los grupos se encuentra similar. *L. fermentum* posee un dato atípico, lo que indica que un panelista calificó el parámetro de esta muestra por debajo de los valores indicados por los otros evaluadores. Nuevamente, todos se denominan con la letra “a”, infiriendo que no existe diferencia estadísticamente significativa en este atributo sensorial cuando se aplican los distintos probióticos a los quesos frescos.

Las medianas del atributo de la textura se encuentran en 6, indicando que este parámetro fue moderadamente aceptado de forma positiva por los panelistas. La dispersión entre todos los grupos sigue siendo considerable, aunque nuevamente el grupo control presenta una mayor dispersión que los otros tratamientos. *L. fermentum*, *P. acidilactici* y la mezcla de probióticos presentan un dato atípico, indicando que un panelista les dio una calificación más baja para este atributo en comparación con las valoraciones brindadas por los otros evaluadores. De nuevo, se les etiquetó con la letra “a” después de la prueba de Tukey, infiriendo así que no existe diferencia estadísticamente significativa en la textura cuando se aplican los tratamientos probióticos.

Finalmente, las medianas del sabor se encuentran concentradas en el valor 5, por lo que puede inferirse que este atributo no fue bien aceptado por los panelistas. Asimismo, se aprecia que *L. lactis* subsp. *lactis* presenta una mayor dispersión que los otros tratamientos, sin embargo, todos cuentan con una dispersión considerable. Las cajas de este gráfico también poseen la etiqueta de “a”, indicando, nuevamente, que no existe diferencia significativa en los atributos del sabor para los tratamientos aplicados cuando se compara con el queso control.

F. Estudio de vida útil

Es posible apreciar el tiempo de vida útil de cada uno de los quesos frescos elaborados, en dónde se puede observar que el queso con menor vida útil fue el que contenía la mezcla de los tres probióticos, mientras que el que tuvo una vida útil más larga fue el queso elaborado con la cepa *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435 (ver Figura 32). Los factores que pudieron afectar estos resultados serán discutidos a continuación.

Para la cepa *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 fue posible apreciar que tuvo 18 días de vida útil, terminando con un pH de 6.57 y un contenido de ácido láctico de $9.00 \cdot 10^{-3}$ %. Se ha demostrado que este microorganismo posee una alta actividad de proteasa (5.8 IU/mL) y amilasa (0.564 IU/mL) en comparación con otros probióticos (Grujović et al., 2020). También se ha demostrado que presenta actividad de otras enzimas, como la β -glucoronidasa, α -glucosidasa, leucina aminopeptidasa, fosfohidrolasa, fosfatasa ácida y β -galactosidasa (Sudeepa y Bhavini, 2020).

Es posible apreciar que el pH aumentó a lo largo de la vida útil para el queso que fue inoculado con esta cepa; esto puede atribuirse a la misma proteólisis, pues eso ocasiona la liberación de amonio, haciendo que el pH se torne más alcalino (Ruiz et al., 2025).

Debido a que los quesos frescos tienen una alta actividad de agua, estos tienden a ser más susceptibles a estropearse; la humedad de la superficie de este tipo de quesos contiene ácido láctico, péptidos y aminoácidos, lo que favorece el crecimiento rápido de levaduras (Barukčić et al., 2020).

Sin embargo, este comportamiento no es el usual al momento de utilizar *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338, pues tiende a producir ácido láctico y, por consiguiente, disminuir el pH en lugar de aumentarlo; empero, se ha reportado que una alta cantidad de las cepas *Lactobacillus* en queso puede ocasionar disminución en la vida útil, ya que estas pueden generar un exceso de gas y amonio por la misma proteólisis (Khalid y Marth, 1990).

Es posible apreciar que este probiótico metaboliza la lactosa para convertirla en ácido láctico, ya que, a lo largo de la vida útil, se presentó un aumento de este metabolito en este tiempo (ver gráfico 30). Esto coincide con lo que expresa la literatura, pues *Lactobacillus fermentum* mejora el metabolismo de lactosa y producción de ácido láctico, lo que aumenta la eficiencia de acidificación (Namshir et al., 2025). Además, este probiótico es heterofermentativo, por lo que también produce otras sustancias del metabolismo de lactosa, como etanol, ácido acético y dióxido de carbono (Ibrahim, 2016).

En el Cuadro 17, se presentan los resultados de las propiedades sensoriales al final de la vida útil, pudiéndose observar que se presentó mucha sinéresis, lo cual es ocasionado por la misma degradación de las proteínas, ya que matriz pierde la capacidad de retener agua (McSweeney, 2017). La pérdida del aroma lácteo puede atribuirse a la vaporización de estos compuestos por la lipólisis (Le Quéré y Buchin, 2002). El aroma a etanol se atribuye a que esta cepa produce ácido acético (Crow y Curry, 2002a). Finalmente, el color amarillo puede atribuirse a la oxidación de la riboflavina y betacaroteno por la luz solar (Juric et al., 2003).

Los quesos inoculados con *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 tuvieron una vida útil de 18 días, culminando con un pH de 6.60 y un porcentaje de ácido láctico de $9.00 \cdot 10^{-3}$ %. Este probiótico presenta actividades enzimáticas de α -quimotripsina, α y β galactosidasa, proteasa, α y β glucuronidasa y esterasa (Abbasiliasi et al., 2017). La α -quimotripsina es una proteasa sérica que se ha utilizado para catalizar la hidrólisis de péptidos de aminoácidos como la tirosina, fenilalanina, triptófano y leucina (Lisak et al., 2013). Debido a que produce α y β galactosidasa, metaboliza la lactosa y fermenta sus subproductos, generando ácido láctico sin producir gas (Feiner, 2006).

Es posible apreciar que el pH y el contenido de ácido láctico aumentaron a lo largo del tiempo de la vida útil; además, se puede observar que, de las tres cepas, esta fue la que produjo menor cantidad de ácido láctico. *Pediococcus acidilactici* produce más ácido acético que láctico bajo condiciones aeróbicas, lo cual pudo evidenciarse en el comportamiento del contenido ácido láctico a lo largo de la vida útil y en el aroma del queso a fermentado al final de este tiempo (Raccach, 2014). Por otro lado, el aumento de pH puede atribuirse a la misma proteólisis que genera amonio, lo cual puede deberse a un exceso de probiótico, reduciendo el tiempo de vida útil para esta muestra (Khalid y Marth, 1990).

La textura del queso puede haberse visto debilitada por la proteólisis ejercida por esta cepa, ocasionando la sinéresis y la suavidad en la textura (Wang et al., 2022); el color amarillo, como fue discutido, se atribuye a la liberación del betacaroteno por este mismo fenómeno enzimático (Ferraz, Santos y Serralheiro, 2024).

La vida útil que se obtuvo para los quesos que contenían la cepa *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435 fue la más larga, pues fue de 40 días, terminando con un pH de 6.10 y un porcentaje de ácido láctico de $2.30 \cdot 10^{-2}$ %. Se ha encontrado que este probiótico tiene una actividad de proteasa de 0.7 UI/mL, de invertasa ácida de 0.03 UI/mL y fosfatasa alcalina de 0.004 UI/mL; es posible apreciar que, en comparación con la cepa *Lactobacillus fermentum*, la actividad de la proteasa es más baja (Grujović et al., 2020).

Asimismo, se ha reconocido que esta cepa es capaz de acidificar rápidamente el medio, pues la familia *Lactococcus* produce la enzima lactasa, catalizando así la hidrólisis de la lactosa, convirtiéndola en glucosa y galactosa, lo que contribuye a la generación de ácido láctico a lo largo del proceso de maduración (Kondrotiene et al., 2023). Esto, de igual manera, justificaría el comportamiento creciente de ácido láctico, así como la disminución de pH.

Es posible apreciar que se tuvo un incremento de 15 días en la vida útil al utilizar este probiótico; en este tipo de quesos con vida útil corta, su estabilidad depende de la moderación del crecimiento de microorganismos de deterioro (Jalilzadeh, Tunçtürk y Hesari, 2015). Debido a la acidificación que ocasiona en el medio este probiótico, ayuda a prevenir la proliferación de estos microbios y de patógenos (Andersen et al., 2009). Además, produce el péptido nisina, lo que contribuye a sus efectos antimicrobianos (Kondrotiene et al., 2023). A estos metabolitos que genera *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* se les puede atribuir el aumento en la vida útil de los quesos elaborados.

Finalmente, en cuanto a las características sensoriales evaluadas, se pudo observar una reducción en el aroma lácteo, lo cual se atribuye nuevamente a la evaporación de estos compuestos por la lipólisis; por otro lado, el leve aroma a vinagre puede atribuirse a la fermentación alcohólica por levaduras, lo que produce este tipo de olor (Le Quéré y Buchin, 2002). Para la textura, fue posible apreciar que esta fue firme y que se tuvo sinéresis; esto puede deberse a que la acidificación produce que las caseínas formen un gel fuerte, expulsando así el suero, lo que le da dureza a la cuajada (Gaber et al., 2021).

En el caso del color, la corteza del queso puede perder brillo al ser comparado con la parte interna, lo que puede atribuirse a la exposición de la superficie del queso al ambiente, resultando en pérdida de agua y cambios de gases con la atmósfera externa; de igual manera, el aumento del color amarillo es un comportamiento que se ha observado en los quesos inoculados con este probiótico en otros estudios, lo que se le atribuye a los carotenoides presentes en la leche, los cuales se concentran con la deshidratación (Barrionuevo et al., 2020).

La mezcla de probióticos fue la muestra que tuvo una menor vida útil con 16 días, finalizando con un pH de 6.80 y un contenido de ácido láctico de $1.00 \cdot 10^{-2}$ %. Se ha

encontrado que, al aplicar mezclas de probióticos, se obtiene una alta actividad proteolítica, lo que produce la hidrólisis rápida de caseína (Loghman et al., 2022). Como se expresó con anterioridad, esta actividad proteolítica afecta directamente en la textura y el pH, haciendo que este aumente por el exceso de producción de amonio (Ruiz et al., 2025). El color amarillo intenso se debe a la concentración de los carotenoides por deshidratación y a la hidrólisis de compuestos grasos y proteicos que protegen este pigmento, lo que ocasiona su respectiva liberación (Ferraz, Santos y Serralheiro, 2024).

De igual manera, esto afectó en el contenido de ácido láctico, pues fue el queso que presentó una menor cantidad de este. La baja producción de este ácido puede verse afectada por una posible competencia entre estos probióticos por nutrientes (Fendy, 2025). La producción de ácido láctico también puede verse afectada por la interacción entre las bacterias iniciadoras y la microbiota del alimento, sensibilidad de parte de las bacterias ácido lácticas hacia metabolitos producidos por otras bacterias competidoras y cambios extremos de temperatura, pH y presión (Sionek et al., 2024).

La muestra control tuvo una vida útil de 25 días, terminando con un valor de pH de 6.65 y un contenido de ácido láctico de $2.30 \cdot 10^{-2}$ %. Se ha evidenciado que, a lo largo de la vida útil del queso fresco, se evidencia la proteólisis y lipólisis, la cual puede ser conllevada por mohos y levaduras o por bacterias ácido lácticas endógenas de la leche (Coronado y Espitia, 2015). Esto, como fue discutido con anterioridad, produce una textura suave ya que se rompe la estructura proteica de la caseína, lo que también aumenta la sinéresis; además, por estos mismos cambios bioquímicos, se da un aumento de pH a lo largo del tiempo (Panizzolo et al., 2011). Por otro lado, el contenido de ácido láctico aumenta a pesar de que no se agregó ningún probiótico, lo cual se atribuye a las bacterias ácido lácticas presentes de manera natural en el ambiente y en la leche que se utilizó como materia prima (Coelho, Malcata y Silva, 2022).

En cuanto al aroma a vinagre, se atribuye a la fermentación de ácido que se lleva a cabo por microorganismos de deterioro presentes en el queso (Le Quéré y Molimard, 2002). El color del queso, el cual se tornó de un color amarillo intenso, puede atribuirse a la deshidratación de la cuajada, lo que ocasiona que se concentren los betacarotenos (Ferraz, Santos y Serralheiro, 2024).

En un estudio llevado a cabo por Bravo, Araujo y Plácido (2017), se estableció un tiempo estimado de vida útil de 2 semanas (14 días) para el queso fresco que se elaboró. Es posible apreciar que el queso control que se elaboró en esta experimentación tuvo un tiempo de vida mayor (11 días más), lo que puede atribuirse al tipo de empaque utilizado para los quesos, ya que el que se utilizó en ese estudio era de polietileno, mientras que los quesos elaborados fueron empacados en bolsas de alta barrera de EVOH. Los empaques de polietileno pueden ser sellados al calor y tienen una buena barrera ante la humedad y vapor de agua, sin embargo, no presentan una barrera eficaz ante grasas y aceites ni gases como dióxido de carbono y oxígeno comparado con otros plásticos; por otro lado, los empaques de EVOH presentan una alta barrera ante aceites, grasas, solventes orgánicos, oxígeno y aromas del entorno, además de tener una baja sensibilidad ante la humedad (Coles, McDowell y Kirwan, 2003).

En la Figura 31, donde se presenta el contenido de ácido láctico a lo largo del tiempo, es posible apreciar que no se presentan límites como en la Figura 30 para el pH; esto se debe a que la cantidad de ácido láctico que presentaron las muestras estuvo por debajo de los límites reportados por la literatura (0.08-0.18 %) de acuerdo con Gutiérrez et al., 2023. Esto puede atribuirse a la cantidad de ácido láctico inicial que contenía la leche empleada como materia prima, cuyos parámetros fueron discutidos en la sección IX. A. del presente documento; asimismo, se ha establecido que el 98 % de la lactosa de la leche es removida en el suero durante la elaboración del queso, ya sea como lactosa o ácido láctico, además de que se ha reportado que la lactosa residual en la cuajada del queso es metabolizada en las etapas tempranas de la maduración, por lo que eso pudo afectar, de igual manera, el contenido de este ácido en los quesos elaborados (Fox, Lucey y Cogan, 1990).

Las fluctuaciones de pH y ácido láctico en las muestras de queso fresco a lo largo de la vida útil también pueden atribuirse a los cambios bioquímicos inducidos por los probióticos, como la generación de ácido láctico (Mei et al., 2015) y la posible presencia de otros microorganismos como mohos y levaduras, los cuales también contribuyen a la proteólisis; otro factor que afecta en el pH es la presencia de iones metálicos como calcio y magnesio, ya que estos pueden desprotonar los ácidos, ocasionando que la concentración de iones hidronio se reduzca (Upreti, Bühlmann y Metzger, 2006).

En los Cuadros 15 y 16, se presentan los resultados del promedio de contenido de ácido láctico y pH con su respectiva desviación estándar. Las desviaciones estándar para los resultados presentados fueron bajas para la mayoría de los casos, llegando a obtener 0 en diversas mediciones, lo que refleja que los métodos utilizados para realizar las mediciones son confiables. Sin embargo, puede presenciarse que las desviaciones obtenidas para el pH fueron menores que para el contenido de ácido láctico, por lo que se puede inferir que el método utilizado para la medición de pH es más confiable que el que se utilizó para determinar el porcentaje de ácido láctico (Rayat, 2018).

X. Conclusiones

- Las cepas con mejor desempeño fueron *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435 y *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 debido a que redujeron 4.56 log UFC/g y 4.86 log UFC/g de *Escherichia coli* y 3.61 log UFC/g ambas para *Salmonella typhimurium* en los quesos frescos contaminados.
- Se evaluó la cantidad de unidades logarítmicas reducidas para cada uno de los patógenos, en donde se pudo apreciar que la mezcla de probióticos fue la que presentó mayor actividad antagonista ante *Salmonella typhimurim*, ya que redujo 3.80 log UFC/g; por otro lado, para *Escherichia coli*, la cepa que disminuyó más unidades logarítmicas fue *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 con 4.86 log UFC/g.
- Se caracterizaron las propiedades organolépticas de cada queso, pudiendo apreciar que el atributo mejor calificado para todos fue el color, mientras que el que presentó calificaciones más bajas fue el sabor; sin embargo, no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los inóculos utilizados.
- Se determinó el tiempo de vida útil para cada uno de los quesos frescos elaborados, pudiéndose identificar que el queso con mayor tiempo de vida fue el que contenía el probiótico *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435, pues tuvo 40 días; por otro lado, el queso con menor vida útil fue el de la mezcla de probióticos con 16 días.
- Se evaluó la leche de manera fisicoquímica y microbiológica previo a su uso en la experimentación, encontrándose que los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos se encontraban dentro de lo que establecían los valores teóricos consultados, lo que indica que la leche era adecuada para utilizarse en el experimento.
- El queso inoculado con *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435 fue el que presentó los mejores resultados en general, pues extendió la vida útil del queso (40 días) y redujo significativamente la carga de *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* (4.56 log UFC/g y 3.61 log UFC/g). Sin embargo, en el caso de los atributos sensoriales de aceptación general, color, olor, textura y sabor no se encontró una diferencia estadísticamente significativa que pudiera considerarse favorable.

XI. Recomendaciones

- Los resultados de la reducción microbiológica fueron analizados mediante la desviación estándar para validar la dispersión de los datos y su respectiva concentración, sin embargo, se recomienda realizar más repeticiones para este experimento y así tener un análisis de datos más robusto que permita establecer si existe una diferencia estadísticamente significativa entre la reducción que brindan los inóculos aplicados a los quesos frescos (Esponda, 2001).
- Fue posible apreciar que se disminuyó la carga de patógenos en los quesos a los que les fueron aplicados los tratamientos probióticos, lo que podría sugerir que, si se cuenta con una población menor inicial de estos, puede haber una inhibición completa, por lo que se recomienda elaborar el estudio con distintas poblaciones iniciales de los patógenos para establecer si puede haber una inhibición total de estos (González et al., 2006).
- Debido a que no se obtuvieron buenos resultados en la determinación de vida útil para los probióticos *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042, *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 y la mezcla de las tres cepas, se recomienda realizar este análisis nuevamente con diluciones de los probióticos para reducir la actividad enzimática y así poder establecer si existe una concentración idónea para que estos puedan prolongar el tiempo de vida de los quesos (Yi et al., 2020).
- Para poder establecer exactamente qué compuestos volátiles producen los probióticos en el queso fresco se recomienda hacer un análisis de cromatografía de gases con espectrometría de masas, lo que permitirá definir cuáles son estos componentes y cuantificarlos (Sabouri et al., 2023).
- Debido a que se obtuvieron resultados con desviaciones altas para la determinación de la cantidad de *Salmonella typhimurium* presente en el queso fresco, se recomienda utilizar un método más exacto y sensible para la cuantificación de este patógeno, como PCR (Wolffs et al., 2006).
- Para complementar el estudio realizado, se recomienda hacer una determinación de la cantidad de células viables de los probióticos en el queso, además de establecer si estos tienen un efecto positivo en la salud del consumidor. Asimismo, se debería hacer un análisis de costo para definir si el inóculo de los probióticos en el queso fresco resulta ser factible económicamente (Gambogou et al., 2023).
- Se recomienda realizar una experimentación en la que se pueda comparar los efectos de agregar las bacteriocinas puras producidas por cada probiótico versus los inóculos de las cepas probióticas, con la finalidad de establecer qué método es más efectivo en la reducción de microorganismos patógenos (Mohamed et al., 2013).

XII. Presupuesto

Cuadro 18. Presupuesto necesario para poder llevar a cabo la evaluación de la actividad antagónica de tres cepas probióticas contra E. coli ATCC 25922 y S. typhimurium ATCC 14028 en queso fresco artesanal

	Rubros				
1	Honorarios	Unidades (mes, días, horas)	Tarifa (Q)	Total (Q)	Narrativo
	No aplica	-	-	-	-
	Subtotal			-	-
2	Suministros	Unidades	Costo unitario	Total	Narrativo
	Leche de vaca (10 L)	7	Q 80.00	Q 560.00	Materia prima empleada para la elaboración de los quesos.
	Papel bond (25 hojas)	1	Q 15.00	Q 15.00	Material a utilizar en los paneles sensoriales a elaborar.
	Insumos desechables (servilletas, vasos, platos y tenedores, 25 unidades c/u)	3	Q 17.40 Q 10.25 Q 19.60 Q 3.60	Q 152.55	Material a utilizar en los paneles sensoriales a elaborar.
	Snacks de Frito Lay (Lonchera y Refa Pack)	3 y 4	Q 38.85 Q 20.05	Q 196.75	Premio brindado a los panelistas por su participación.
	Bandejas de 1/2 libra para queso	55	Q 0.33	Q 17.98	Contenedor usado para moldear y almacenar el queso.
	Bolsas para empacar al vacío	150	Q 1.49	Q 223.50	Material utilizado para el empaque de los quesos.
	Hidróxido de sodio (10 g)	1	Q 11.76	Q 11.76	Reactivo usado para hacer los análisis de acidez titulable en la leche y el queso.

	Fenolftaleína (5 g)	1	Q	5.57	Q	5.57	Reactivo utilizado para hacer los análisis de acidez titulable en la leche y el queso.
	Cloruro de calcio (28 g)	1	Q	50.74	Q	50.74	Solución usada para elaborar el queso fresco.
	<i>Salmonella typhirium</i> ATCC 14028 (1 pellet)	1	Q	313.58	Q	313.58	Microorganismo usado en la inoculación de quesos.
	Caldo tripticasa soya (500 g)	1	Q	921.77	Q	921.77	Caldo nutritivo usado para el enriquecimiento de los patógenos, la dilución inicial en los análisis microbiológicos y la elaboración de agar tripticasa soya.
	Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD) (170 g)	1	Q	141.99	Q	141.99	Medio sólido usado para el recuento y determinación de <i>Salmonella typhirium</i> en la experimentación.
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (1 pellet)	1	Q	360.33	Q	360.33	Microorganismo usado en la inoculación de quesos.
	Agar Chromocult (100 g)	1	Q	519.16	Q	519.16	Medio sólido para realizar conteos y determinación de <i>Escherichia coli</i> a lo largo de la experimentación.
	<i>Pediococcus acidilactici</i> ATCC 8042 (1 pellet)	1	Q	466.80	Q	466.80	Probiótico usado en la inoculación de quesos.
	<i>Lactobacillus paracasei</i> ATCC 334 (1 pellet)	1	Q	656.38	Q	656.38	Probiótico usado en la inoculación de quesos.
	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> ATCC 9338 (1 pellet)	1	Q	309.30	Q	309.30	Probiótico usado en la inoculación de quesos.
	Caldo MRS (40 g)	1	Q	64.61	Q	64.61	Medio usado para enriquecer a los probióticos empleados.
	Agua peptonada (100 g)	1	Q	230.54	Q	230.54	Insumo utilizado para realizar diluciones y tubos de dilución para

					los análisis microbiológicos.
	Cuajo Marschall (1 pastilla)	2	Q 1.25	Q 2.50	Insumo utilizado para la coagulación de la leche.
	Agar (90 g)	1	Q 351.30	Q 351.30	Gelificante usado para hacer agar tripticasa soya.
	Agar Rambach (250 mL)	1	Q 252.87	Q 252.87	Agar utilizado para la detección de <i>Salmonella</i> spp. en la leche.
	Leche descremada (15g)	1	Q 15.87	Q 15.87	Utilizada para la elaboración del cepario.
	Subtotal			Q 5,840.84	-
3	Equipo	Unidades	Costo	Total	Narrativo
	No aplica	-	-	Q -	-
	Subtotal			Q -	-
4	Transporte y viáticos	Unidades	Costo	Total	Narrativo
	No aplica	-	-	Q -	-
	Subtotal			Q -	-
5	Servicios externos	Unidades	Costo	Total	Narrativo
	No aplica	-	-	Q -	-
	Subtotal			Q -	-
6	Imprevistos (max. 10%)	-	-	Total	Narrativo
	Subtotal			Q 584.08	-
	TOTAL			Q 6,424.93	-

XIII. Cronograma

Cuadro 19. Programación de actividades para poder llevar a cabo la evaluación de la actividad antagonista de tres cepas probióticas contra *E. coli* ATCC 25922 y *S. typhimurium* ATCC 14028 en queso fresco artesanal

Día	Abril					Julio															Agosto							
	S3	S2	S1	S4	S5	16-Jul	17-Jul	18-Jul	19-Jul	21-Jul	22-Jul	24-Jul	25-Jul	26-Jul	28-Jul	29-Jul	30-Jul	31-Jul	1-Ag	2-Ag	4-Ag	8-Ag	14-Ag	19-Ag	20-Ag	23-Ag		
Evaluación de la actividad antagonista																												
Control de calidad de la leche																												
Elaboración de los quesos frescos inoculados con <i>E. coli</i> ¹																												
Análisis de los quesos frescos inoculados con <i>E. coli</i> ¹																												
Recuento microbiológico de los quesos inoculados con <i>E. coli</i> ¹																												
Elaboración de los quesos frescos para determinar vida útil																												
Determinación de la vida útil de los quesos inoculados con probióticos																												
Elaboración de los quesos frescos para panel sensorial																												
Panel sensorial de los quesos inoculados con probióticos																												

Día	Agosto					Septiembre															Octubre																	
	S4	S3	S2	S1	S5	21-Ag	22-Ag	23-Ag	25-Ag	29-Ag	30-Ag	1-Sep	2-Sep	3-Sep	4-Sep	5-Sep	6-Sep	8-Sep	9-Sep	10-Sep	11-Sep	12-Sep	13-Sep	16-Sep	1-Oct	2-Oct	3-Oct	4-Oct	6-Oct	7-Oct	11-Oct	13-Oct	17-Oct	18-Oct	21-Oct	22-Oct		
Evaluación de la actividad antagonista																																						
Control de calidad de la leche																																						
Elaboración de los quesos frescos inoculados con <i>S. typhimurium</i> ¹																																						
Análisis de los quesos frescos inoculados con <i>S. typhimurium</i> ¹																																						
Recuento microbiológico de los quesos inoculados con <i>S. typhimurium</i> ¹																																						
Elaboración de los quesos frescos inoculados con <i>E. coli</i> ²																																						
Análisis de los quesos frescos inoculados con <i>E. coli</i> ²																																						
Recuento microbiológico de los quesos inoculados con <i>E. coli</i> ²																																						
Elaboración de los quesos frescos inoculados con <i>S. typhimurium</i> ²																																						
Análisis de los quesos frescos inoculados con <i>S. typhimurium</i> ²																																						
Recuento microbiológico de los quesos inoculados con <i>S. typhimurium</i> ²																																						

XIV. Referencias

- Aasen, I. M., Moretro, T., Katla, T., Axelsson, L. y Storro, I. (2000). Influence of complex nutrients, temperature and pH on bacteriocin production by *Lactobacillus sakei* CCUG 42687. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 53(2), 159-166. <https://doi.org/10.1007/s002530050003>
- Abarquero, D., Renes, E., Fresno, J. M. y Tornadijo, M. E. (2022). Study of exopolysaccharides from lactic acid bacteria and their industrial applications: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 57(1), 16-26. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15227>
- Abbasiliasi, S., Shun Tan, J., Bashokouh, F., Tengku Ibrahim, T. A., Mustafa, S., Vakhshiteh, F., Sivasambo, S. y Ariff, A. B. (2017) In vitro assessment of *Pediococcus acidilactici* Kp10 for its potential use in the food industry. *BMC Microbiology*, 17(1), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s12866-017-1000-z>
- Abbasiliasi, S., Shun Tan, J., Tengku Ibrahim, T. A., Bashokouh, F., Ramakrishnan, N. R., Mustafa, S. y Ariff, A. B. (2017). Fermentation factors influencing the production of bacteriocins by lactic acid bacteria: a review. *The Royal Society of Chemistry*, 7, 29395-29420. <https://doi.org/10.1039/C6RA24579J>
- Abramov, V. M., Kosarev, I. V., Machulin, A. V., Priputnevich, T. V., Chikileva, I. O., Deryusheva, E. I., Abashina, T. N., Donetskova, A. D., Panin, A. N., Melnikov, V. G., Suzina, N. E., Nikonov, I. N., Selina, M. V., Khlebnikov, V. S., Sakulin, V. K., Vasilenko, R. N., Samoilenko, V. A., Uversky, V. N. y Karlyshev, A. V. (2022). *Limosilactobacillus fermentum* Strain 3872: Antibacterial and Immunoregulatory Properties and Synergy with Prebiotics against Socially Significant Antibiotic-Resistant Infections of Animals and Humans. *Antibiotics*, 11(10), 1-24. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101437>
- Afraei, M., Hadi Razavi, S., Nouri, M., Maleki Jahan, F. y Shafiepour, M. (2025). Innovative applications of pediocin in food preservation: A natural alternative to chemical additives – A review. *The Microbe*, 8, 1-16. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2025.100452>

- Agudelo Londoño, N. (2013). *Estado del arte de la obtención de bacteriocinas a partir de bacterias ácido lácticas y su aplicación en la industria de alimentos*. [Trabajo de grado de ingeniería, Universidad Pontificia Bolivariana]. Repositorio Universidad Pontificia Bolivariana. <https://repository.upb.edu.co/bitstream/handle/20.500.11912/1409/Trabajo%20final.pdf?sequence=1>
- Agudelo Londoño, N., Torres Taborda, M. M., Álvarez López, C. y Vélez Acosta, L. M. (2015). Bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas y su aplicación en la industria de alimentos. *Revista Alimentos Hoy*, 23(36). <https://alimentos hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/356>
- Agudelo Gómez, D. A. y Bedoya Mejía, O. (2005). Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. *Revista Lasallista*, 2(1), 38-42. ISSN 1794-4449.
- Akar, N. Z. (2022). Exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria: Functional Properties and Effects on Yogurt Texture. *Journal of The Institute of Science and Technology*, 5(2), 1053-1068. <https://orcid.org/0000-0003-2485-2382>
- Akbar, A., Sadiq, M. B., Ali, I., Anwar, M., Muhammad, N., Muhammad, J., Shafee, M., Ullah, S., Gul, Z., Qasim, S., Ahmad, S. y Anal, A. K. (2019). *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* isolated from fermented milk products and its antimicrobial potential. *CyTA - Journal of Food*, 17(1), 214-220. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1575474>
- Alais, Charles. (2022). *Ciencia de la leche*. 4ta edición. Barcelona: Editorial Reverté. 89 págs.
- Alemdar, S. y Ağaoğlu, S. (2008). Survival Of *Salmonella Typhimurium* During The Ripening Of Herby Cheese (Otlu Peynir). *Journal of Food Safety*. 30(2010), 526-536. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2010.00263.x>
- Altin, C., Kabwanga, T. I., Kiran, F. y Ozturkoglu-Budak, S. (2023). Evaluation of autochthonous *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* strain as a candidate starter culture in white-brined cheese. *Food Science and Biotechnology*, 33(1), 115-127. <https://doi.org/10.1007/s10068-023-01332-y>
- Álvarez Yanamango, E. G. (2011). *Efectos del Lactobacillus casei ATCC 393TM sobre el Escherichia coli durante la vida comercial del queso fresco*. [Tesis de ingeniería, Universidad Nacional del Callao]. Repositorio Institucional Digital Universidad Nacional del Callao. <https://hdl.handle.net/20.500.12952/419>
- Amiot, J. (1991). *Ciencia y Tecnología de la leche. Principios y aplicaciones*. Primera edición. Zaragoza: Editorial Acribia. 547 págs.

- Andersen, A. Z., Carvahlo, A. L., Neves, A. R., Santos, H., Kummer, U. y Olsen, L. F. (2009). The metabolic pH response in *Lactococcus lactis*: An integrative experimental and modelling approach. *Computational Biology and Chemistry*, 33(1), 71-83. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2008.08.001>
- Anjum Murtaza, M., Huma, N., Sameen, A., Saeed, M. y Shamas Murtaza, M. (2014). Minerals and Lactic Acid Contents in Buffalo Milk Cheddar Cheese; a Comparison with Cow. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2(8), 465-468. <https://doi.org/10.12691/jfnr-2-8-6>
- Anjum, N., Maqsood, S., Masud, T., Ahmad, A., Sohail, A., y Momin, A. (2014). *Lactobacillus acidophilus*: Characterization of the Species and Application in Food Production. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(9), 1241–1251. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.621169>
- Arana, I., Orruño, M. y Barcina, I. (2011). *Cómo abordar y resolver aspectos prácticos de microbiología: Diluciones y concentraciones. Muestras líquidas y sólidas.* Universidad del País Vasco. https://ocw.ehu.es/pluginfile.php/51742/mod_resource/content/1/Tema_1_Diluciones_y_concentraciones.pdf
- Arredondo Solórzano, R. J., Aguilar Méndez, M. J. y Noriega Luna, B. (2016). Aislamiento y caracterización de microorganismos nativos de muestras de suelos contaminados con residuos mineros. *Jóvenes de divulgación científica*, 2(1), 522-526. <https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/download/1097/730/3456>
- Arteaga Bolaños, L. M. (2016). *Implementación de un plan de mejoramiento de calidad de la leche, de proveedores de San Antonio Cañar.* [Trabajo de titulación de ingeniería, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. Repositorio Académico de la producción intelectual de la Comunidad Politécnica Chimborazo. <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/6079/1/27T0315.pdf>
- Asociación para la Promoción y el Desarrollo de la Comunidad -CEIBA-. (2010). *Canasta básica en Guatemala: Diagnóstico, Tendencias y Monitoreo.* Asociación para la Promoción y el Desarrollo de la Comunidad -CEIBA-. https://biblioteca.hegoa.ehu.es/downloads/18746/%2Fsystem%2Fpdf%2F2778%2FCanasta_B_sica_en_Guatemala.pdf
- Badui Dergal, S. (2020). *Química de los alimentos.* 6ta edición. Ciudad de México: Pearson Educación. 632 págs.
- Bakhtiary, A., Cochrane, S. A., Mercier, P., McKay, R. T., Miskolzie, M., Sit, C. S., y Vederas, J. C. (2017). Insights into the Mechanism of Action of the Two-Peptide Lantibiotic Lacticin 3147. *Journal of the American Chemical Society*, 139(49), 17803–17810. <https://doi.org/10.1021/jacs.7b04728>

- Balmori, V. L., Dizon, E. I., Barrion, A. S. A y Elegado, F. B. (2019). Effect of adjunct inoculation of *Lactobacillus plantarum* BS and *Pediococcus acidilactici* 3G3 on the microbiological, physicochemical and sensory properties of fermented carabeef (*pindang damulag*). *Food Research*, 3(1), 70-78. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.3\(1\).221](https://doi.org/10.26656/fr.2017.3(1).221)
- Barcenilla Canduela, C. (2019). *Estrategias innovadoras de bioconservación en la industria alimentaria*. [Trabajo fin de máster de ingeniería, Universidad de Valladolid]. Repositorio Documental de la Universidad de Valladolid. <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/38223/TFM-L487.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Barrientos Castañeda, M. (18 de agosto de 2022). Intoxicación por consumo de queso: Salud levanta alerta en Sacatepéquez. *Prensa Libre*. <https://www.prensalibre.com/guatemala/comunitario/intoxicacion-por-consumo-de-queso-salud-levanta-alerta-en-sacatepequez-breaking/>
- Barrionuevo Ressutte, J., Rodrigues, T. S., Soares dos Santos Pozza, M. y Scaramal Madrona, G. (2020). Application of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and *cremoris* as Starter Culture in the Colonial Cheese Production. *Journal of Agricultural Studies*, 8(2), 561-573. <https://doi.org/10.5296/jas.v8i2.16660>
- Barrios Centeno, H. X. (2006). *Evaluación y mejoramiento de la calidad microbiológica de queso fresco a base de leche no pasteurizada, elaborado artesanalmente y comercializado en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala*. [Tesis de ciencias químicas y farmacias, Universidad de San Carlos de Guatemala]. Repositorio institucional de la Universidad de San Carlos de Guatemala. http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2422.pdf
- Barron, L., Redondo, Y., Aramburu, M., Pérez-Elortondo, F. J., Albisu, M., Nájera, A. y de Renobales, M. (2005). Variations in volatile compounds and flavour in Idiazabal cheese manufactured from ewe's milk in farmhouse and factory. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(10), 1660-1671. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2175>
- Barukčić, I., Ščetar, M., Marasović, I., Jakopović, K. L., Galić, K. y Božanić, R. (2020). Evaluation of quality parameters and shelf life of fresh cheese packed under modified atmosphere. *J. Food Sci. Technol.*, 57(7), 2722-2731. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04308-6>
- Battro, P. (2010). *Quesos Artesanales*. Primera edición. Buenos Aires: Editorial Albatros. 160 págs.

- Bhunja, A. K., Johnson, M. C., Ray, B. y Kalchayanand, N. (1991). Mode of action of pediocin AcH from *Pediococcus acidilactici* H on sensitive bacterial strains. *Journal of Applied Microbiology*, 70(1), 25-33. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1991.tb03782.x?urlappend=%3Futm_source%3Dresearchgate
- Bedolla Bernal, S., Dueñas Gallegos, C., Esquivel Ibarra, I., Favela Torres, T., Guerrero Huerta, R., Mendoza Madrid, E., Navarrete López, A., Olguín Martínez, L. E., Ortiz Gama, J., Pacheco Puc, O., Quiroz Bravo, M., Ramírez Shoettlin, A. y Trujillo Castillo, M. (2016). *Introducción a la Tecnología de Alimentos*. 2da edición. México, D.F.: Limusa Noriega Editores. 148 págs.
- Bejarano Toro, E. E., Sepúlveda Valencia, J. U. y Restrepo Molina, D. A. (2016). Caracterización de un queso procesado untable elaborado a partir de queso fresco (quesito antioqueño). *Revista Facultad de Agronomía – Medellín*, 69(2), 8015-8022. <https://doi.org/10.15446/rfna.v69n2.59146>
- Bennington, J. (2000). *Diccionario enciclopédico del laboratorio clínico*. Primera edición. Madrid: Editorial Médica Panamericana. 1535 págs.
- Bobadilla Quiroz, D. K. (2020). *Presencia de mohos patógenos en quesos frescos al granel que se expendan en el mercado de transferencia de víveres en el sector Montebello*. [Trabajo de titulación de medicina veterinaria y zootecnia, Universidad Agraria del Ecuador]. Centro de información agraria. [https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/BOBADILLA%20QUIROZ%20DIANA%20KARINA_compressed\(1\).pdf](https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/BOBADILLA%20QUIROZ%20DIANA%20KARINA_compressed(1).pdf)
- Boza E., Morales, I. y Henderson, M. (2010). Desarrollo De Un Queso Maduro Con Adición Del Cultivo Probiótico *Lactobacillus Paracasei* Subsp. *Paracasei* Lc-01. *Revista Chilena de Nutrición*, 37(2), 215-223. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182010000200011>
- Bragason, E., Berhe, T., Dashe, D., Sørensen, K. I., Eshetu Guya, M. y Hansen, E. B. (2020). Antimicrobial activity of novel *Lactococcus lactis* strains against *Salmonella Typhimurium* DT12, *Escherichia coli* O157:H7 VT and *Klebsiella pneumoniae* in raw and pasteurised camel milk. *International Dairy Journal*, 111, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104832>
- Bravo Mogollon, B. J., Araujo Vera, D. M. y Plácido Oscco, R. H. (2017). *Estimación de la vida útil sensorial del queso fresco de leche de bovino (Bos Taurus) utilizando el método de riesgos de Weibull*. [Tesis para optar al título de Ingeniería de Alimentos, Universidad Nacional del Callao]. Repositorio institucional Universidad Nacional del Callao. <https://repositorio.unac.edu.pe/item/924b2375-b10f-4ef6-aa92-0b8de90f42d9>

- Brickley, C.A., Govindasamy-Lucey, S., Jaeggi, J. J., Johnson, M. E., McSweeney, P. L. H. y Lucey, J. A. (2008). Influence of Emulsifying Salts on the Textural Properties of Nonfat Process Cheese Made from Direct Acid Cheese Bases. *J. Dairy Sci.*, 91(1), 39-48. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0393>
- Buffo, M. N. (2003). *Aplicación de las altas presiones hidrostáticas en la elaboración de queso de cabra*. [Memoria para optar al grado de ciencia y tecnología de alimentos, Universitat Autònoma de Barcelona]. Repositorio Universitat Autònoma de Barcelona, Doctorados. <https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/5656/mnb1de2.pdf?sequence=1>
- Bulteh 2000. (2016). *Ekomilk Bond Total. Ultrasonic analyzer. Operating Instructions*. Bulteh 2000. <https://bulteh.com/pdf/user-manual-ekomilk-bond-total-en.pdf>
- Burgos, J., Pérez, R., Cobo, A., Lucas, R. y Gálvez, A. (2017). Bioconservación de alimentos lácteos. *Anales*, 30(1), 193-206. <https://helvia.uco.es/handle/10396/18844>
- Buttriss, J. (2003). *MILK | Dietary Importance*. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. Segunda edición. Londres: Academic Press. 3968-3974. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00788-4>
- Cabo, M. L., Torres, B., Herrera, J. J. R., Bernárdez, M. y Pastoriza, L. (2009). Application of Nisin and Pediocin against Resistance and Germination of *Bacillus* Spores in Sous Vide Products. *Journal of Food Protection*, 72(3), 515-523. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-72.3.515>
- Calvache García, I. y Navas Panadero, A. (2012). Factores que influyen en la composición nutricional de la leche. *Revista Ciencia Animal*, 1(5), 73-85. ISSN 2011-513X.
- Cálix-Lara, T., Rajendran, M., Talcott, S. T., Smith, S.B., Miller, R. K., Castillo, A., Sturino, J. M. y Matthew, T. (2014). Inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* on spinach and identification of antimicrobial substances produced by a commercial Lactic Acid Bacteria food safety intervention. *Food Microbiology*, 38, 192-200. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.09.006>
- Carrillo, M. L. y Mondragón Hernández, F. M. (2011). Estudio de vida útil del queso asadero. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 12(3), 1-8. <https://respyn.uanl.mx/index.php/respyn/article/view/291>
- Cartes Tironi, P. A. (2005). *Viabilidad de las cepas de Lactobacillus casei shirota y Bifidobacterium lactis en un postre de leche con salsa de cranberry*. [Tesis de ingeniería, Universidad Austral de Chile]. Tesis electrónicas Universidad Austral de Chile. <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2005/fac244v/doc/fac244v.pdf>

- Cedeño Alcívar, M. A. y Mera Arcila, Y. E. (2015). *Efectos de la utilización de probióticos en las características físico-químicas y sensoriales del queso fresco*. [Trabajo de titulación de ingeniería, Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí]. Repositorio Institucional de la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí. <https://repositorio.uleam.edu.ec/bitstream/123456789/2814/1/ULEAM-IAL-0057.pdf>
- Centers of Disease Control and Prevention (CDC). (2025). *When and How to Clean and Disinfect Your Home*. Centers of Disease Control and Prevention (CDC). https://www.cdc.gov/hygiene/about/when-and-how-to-clean-and-disinfect-your-home.html?CDC_AAref_Val=https://www.cdc.gov/hygiene/cleaning/cleaning-your-home.html
- Cervantes Castro, J. E. (2013). *Antagonismo microbiano como alternativa para controlar el desarrollo de Salmonella enterica y Escherichia coli O157 en germinados de alfafa*. [Tesis de ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro]. Repositorio Institucional Universidad Autónoma de Querétaro. <https://ri-ng.uaq.mx/bitstream/123456789/522/1/RI000670.pdf>
- Chapman, C. M. C., Gibson, G. R. y Rowland, I. (2012). *In vitro* evaluation of single- and multi-strain probiotics: Inter-species inhibition between probiotic strains, and inhibition of pathogens. *Anaerobe*, 18(4), 405-413. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2012.05.004>
- Chen, C., Li, J., Zhang, H., Xie, Y., Xiong, L., Liu, H. y Wang, F. (2020). Effects of a probiotic on the growth performance, intestinal flora, and immune function of chicks infected with *Salmonella pullorum*. *Poultry Science*, 99(11), 5316-5323. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.07.017>
- Chen, X., Bai, H., Mo, W., Zheng, X., Chen, H., Yin, Y., Liao, Y., Chen, Z., Shi, Q., Zuo, Z., Liang, Z. y Peng, H. (2025). Lactic Acid Bacteria Bacteriocins: Safe and Effective Antimicrobial Agents. *Int. J. Mol. Sci.*, 26(9), 1-28. <https://doi.org/10.3390/ijms26094124>
- Chikindas, M., García-Garcera, M. J., Driessen, A. J. M., Ledebøer, A. M., Nissen-Meyer, J., Nes, I. F., Abee, T., Konings, W. N. y Venema, G. (1993). Pediocin PA-1, a Bacteriocin from *Pediococcus acidilactici* PAC1.O, Forms Hydrophilic Pores in the Cytoplasmic Membrane of Target Cells. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(11), 3577-3584. <https://doi.org/10.1128/aem.59.11.3577-3584.1993>
- Cirat, R., Capozzi, V., Benmechernene, Z., Spano, G., Grieco, F. y Fragasso, M. (2024). LAB Antagonistic Activities and Their Significance in Food Biotechnology: Molecular Mechanisms, Food Targets, and Other Related Traits of Interest. *Foods*, 10(4), 1-19. <https://doi.org/10.3390/fermentation10040222>

- CODEX ALIMENTARIUS. (2024). *CODEX STAN 192-1995: Norma general para los aditivos alimentarios*. FAO/OMS. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B192-1995%252FCXS_192s.pdf
- Coelho, M. C., Malcata, F. X. y Silva, C. C. G. (2022). Lactic Acid Bacteria in Raw-Milk Cheeses: From Starter Cultures to Probiotic Functions. *Foods*, *11*(15), 1-32. <https://doi.org/10.3390/foods11152276>
- COGUANOR NGO 34 041. (2004). *Norma Guatemalteca Obligatoria COGUANOR 34 041. Leche de vaca, pasteurizada, fresca, ultra alta temperatura (UHT) y esterilizada, homogeneizada. Especificaciones*. CRETEC. <https://cretec.org.gt/wp-content/uploads/2021/03/ngo340412da.revisionlechedevacapasteurizadafrescaultraaltatemperatura.pdf>
- COGUANOR NG 34 197. (1975). *Norma Guatemalteca Obligatoria COGUANOR 34 197. Quesos no madurados. Especificaciones*. CRETEC. <https://cretec.org.gt/wp-content/uploads/2021/03/ngo34197quesosnomadurados.pdf>
- Coles, R., McDowell, D. y Kirwan, M. (2003). *Food Packaging Technology*. Primera edición. Nueva York: CRC Press. 362 págs.
- Colugna Espinales, Z. E. (2019). *Efecto de la nisina en la vida útil de yogurt frutado con probióticos*. [Tesis de biología, Universidad Nacional de Trujillo]. Repositorio Universidad Nacional de Trujillo. <https://dspace.unitru.edu.pe/server/api/core/bitstreams/ad114f74-9333-4cf3-bc6a-a78be90a0b3e/content>
- Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF). (1991). *El sistema de análisis de riesgos y puntos críticos: su aplicación en la industria de alimentos*. Primera edición. España: Editorial Acribia. 250 págs.
- Conley, J. (2024). *Advanced Data Analytics with AWS*. Primera edición. Londres: Orange Education Pvt Ltd. 252 págs.
- Coolbear, T., Crow, V. L., Holland, R., Liu, S. Q. y Reid, J. R. (2002). *LACTOCOCCUS spp. | Flavour Development*. Encyclopedia of Food Microbiology. Primera edición. Londres: Academic Press. 1520-1525. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227235-8/00251-0>
- Coronado Ramirez, E. P. y Espitia Petro, R. (2015). *Estudio del efecto de una película antimicrobiana en la vida útil del queso costeño*. [Informe para optar al título de Ingeniería, Universidad de Córdoba]. Repositorio Institucional Universidad de Córdoba. <https://repositorio.unicordoba.edu.co/server/api/core/bitstreams/c00e2519-fdf3-49d5-95e2-67db48d7e8de/content>

- Cortés Sánchez, A. J. y Recillas Mota, J. J. (2015). Alimentos mínimamente procesados de origen vegetal y bioconservación. *Revista Científica de la UNAN-León*, 6(2), 72-83. <http://dx.doi.org/10.5377/universitas.v6i2.13861>
- Crow, V. y Curry, B. (2002a). *LACTOBACILLUS SPP.* | *Other Species*. Encyclopedia of Food Microbiology. Primera edición. Londres: Academic Press. 1507-1511. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227235-8/00245-5>
- Crow, V. y Curry, B. (2002b). *PEDIOCOCCUS spp.* Encyclopedia of Food Microbiology. Primera edición. Londres: Academic Press. 2245-2247. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227235-8/00762-8>
- Cui, S., Zhao, N., Lu, W., Zhao, F., Zheng, S., Wang, W. y Chen, W. (2019). Effect of different *Lactobacillus* species on volatile and nonvolatile flavor compounds in juices fermentation. *Food Science and Nutrition*, 7(7), 2214-2223. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1010>
- Cunningham, A. (2011). *Optimización del rendimiento y aseguramiento de inocuidad en la industria de quesería*. Primera edición. México, D.F.: Organización de los Estados Americanos. 157 págs.
- d'Angelis Antunes, G., Gandra, J.A., Moreira, E. A., Silva Machado, W. C., Magalhães, S.S., Xavier, M., Xavier A. R. (2018). Chromocult Coliform agar and duplex PCR assays as methodologies for tracking *Escherichia coli* K 12 in industrial biotechnological processes. *Journal of Applied Pharmaceutical*, 8(3), 126-132. <http://dx.doi.org/10.7324/JAPS.2018.8318>
- Deak, T. (2014). *Chapter 17 - Thermal Treatment*. Food Safety Management. A practical guide for the food industry. Primera edición. Nueva York: Academic Press. 423-442. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381504-0.00017-2>
- Deegan, L. H., Cotter, P. D., Hill, C. y Ross, P. (2006). Bacteriocins: Biological tools for bio-preservation and shelf-life extension. *International Dairy Journal*, 16(9), 1058-1071. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.10.026>
- Del Castillo, S. y Mestres, J. (2004). *Productos lácteos. Tecnología*. Primera edición. Catalunya: Universidad Politécnica de Catalunya. 228 págs.
- Del Cid Juárez, A. R. (2017). *Comparación de vida útil de un queso fresco procesado sin conservadores y quesos frescos con recubrimientos comestibles de quitosano y aceites esenciales*. [Trabajo de Graduación de Ingeniería, Universidad San Carlos de Guatemala]. Repositorio institucional de la Universidad de San Carlos de Guatemala. <http://www.repositorio.usac.edu.gt/8274/1/TRABAJO%20GRADUACION.pdf>

- de Oliveira Hosken, B., Melo Pereira, G. V., Mayrink Lima, T. T., Batista Ribeiro, J., de Magalhães Júnior, W. C. y Prado Martin, J. G. (2023). Underexplored Potential of Lactic Acid Bacteria Associated with Artisanal Cheese Making in Brazil: Challenges and Opportunities. *Fermentation*, 9(409), 1-18. <https://doi.org/10.3390/fermentation9050409>
- de Souza Rodrigues, J. Z., Ribeiro Pasos, M., de Macêdo Neres, N. S., Almeida, R. S., Soares Pita, L., Almeida Santos, I., Santana Silveira, P. H., Mares Reis, M., Porto Santos, I., Negraõ Ricardo, L. O., Oliveira Lima, B., Farias Marinho, P. D., Brito Soares, A., Bastos Andrade, L. O. S., Brasileiro Pessoa, S. M., Leles Silva, M. M., Cardoso Oliveira, M., Pinheiro da Silva, J., Araújo Moura, M., Peixoto Cruz, M., ..., Yatsuda, R. (2020). Antimicrobial activity of *Lactobacillus fermentum* TcUESC01 against *Streptococcus mutans* UA159. *Microbial Pathogenesis*, 142, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104063>
- Dimopoulou, M. y Dols-Lafargue, M. (2021). Exopolysaccharides Producing Lactic Acid Bacteria in Wine and Other Fermented Beverages: For Better or for Worse? *Foods*, 10(9), 1-16. <https://doi.org/10.3390/foods10092204>
- Donnelly, C. (2016). *The Oxford Companion to Cheese*. Primera edición. Nueva York: Oxford University Press. 849 págs.
- Drider, D. y Rivera Arredondo, V. M. (2016). *Bacterias ácido lácticas*. Primera edición. México, D.F.: Alpha Editions. 347 págs.
- El-Gawad, M. A. M. y Nawal, S. A. (2011). Cheese yield as affected by some parameters review. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 10(2), 131-153. ISSN 1889-9594.
- Espinoza, E., Revollo, S. y Espada, A. (2009). Identificación de *Salmonella* sp mediante la técnica de reacción de cadena de la polimerasa anidado (Nested PCR) y técnicas convencionales en huevos recolectados en los principales mercados de la Ciudad de la Paz. *Visión Científica*, 1(2), 10-16. ISSN 2222-4361.
- Eugster, E., Fuchsmann, P., Schlichtherle-Cerny, H., Bütikofer, U. y Irmeler, S. (2019). Formation of alanine, a-aminobutyrate, acetate, and 2-butanol during cheese ripening by *Pediococcus acidilactici* FAM18098. *International Dairy Journal*, 96(2019), 21-28. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.04.001>
- Esponda, A. (2001). *Hacia una calidad más robusta con ISO 9000:2000*. Primera edición. México, D.F: Panorama Editorial. 230 págs.
- Esteban Cabornero, O. J. (2018). *Identificación y control de peligros microbiológicos que afectan a la calidad en la elaboración de queso*. [Tesis doctoral de ciencias biológicas, Universidad Complutense de Madrid]. Tesis digitales de la Universidad Complutense de Madrid. <https://eprints.ucm.es/id/eprint/49212/1/T40202.pdf>

- Estrada Martínez, M. A. (2011). *El libro blanco de la leche y productos lácteos*. Primera edición. México: Cámara Nacional de Industriales de la Leche. 154 págs.
- Faillace, V. (2019). *Taller de lácteos: Guía práctica de elaboración de queso fresco*. Universidad del Valle de Guatemala.
- Feiner, G. (2006). *Meat Products Handbook: Practical Science and Technology*. Primera edición. Boca Raton: CRC Press. 672 págs.
- Fendy, N. (2025). *Investigating the role of substrate complexity in synthetic microbial communities producing lactic acid*. University and Research Wageningen. <https://edepot.wur.nl/693953#:~:text=Anaerobic%20conditions%20promoted%20rapid%20acidification,determined%20to%20be%20sufficient%20for>
- Ferraz, A. R., Santos Pintado, C. y Serralheiro, M. L. (2024). A Global Review of Cheese Colour: Microbial Discolouration and Innovation Opportunities. *Dairy*, 5(4), 768-785. <https://doi.org/10.3390/dairy5040056>
- Fernández, E., Martínez, J. A., Martínez, V., Moreno, J. M., Collado, L. R., Hernández, M. y Morán, F. J. (2015). Documento de Consenso: importancia nutricional y metabólica de la leche. *Nutrición hospitalaria*, 31(1), 92-101. <https://dx.doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.8253>
- Fiovarante Guerra, A., Fernandes Lemos Junior, W. J., Oliveira dos Santos, G., Andriguetto, C., Gianomini, A., Corich, V. y Luchese, R. H. (2018). *Lactobacillus paracasei* probiotic properties and survivability under stress-induced by processing and storage of ice cream bar or ice-lolly. *Ciencia Rural, Santa María*, 48(9), 1-9. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20170601>
- Forbes, B. A., Sahm, D. F. y Weissfeld, A. S. (2009). *Diagnóstico microbiológico*. 12va edición. Madrid: Editorial Médica Panamericana. 1026 págs.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M. y McSweeney, P. L. H. (2000). *Fundamentals of Cheese Science*. Primera edición. Maryland: Aspen Publishers. 587 págs.
- Fox, P. F., Lucey, J. A. y Cogan, T. M. (1990). Glycolysis and related reactions during cheese manufacture and ripening. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 29(4), 237-253. <https://doi.org/10.1080/10408399009527526>
- Fredua-Agyeman, M., Stapleton, P. y Gaisford, S. (2023). Growth assessment of mixed cultures of probiotics and common pathogens. *Anaerobe*, 84. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2023.102790>
- Fuentes Salcido, N. M. y Barboza Corona, J. E. (2010). Inocuidad y bioconservación de alimentos. *Acta universitaria*, 20(1), 43-52. ISSN 0188-6266.

- Gaber, S. M., Johansen, A. G., Gulbrandsen Devold, T., Rukke, E. O. y Borghild Skeie, S. (2021). Manufacture and characterization of acid-coagulated fresh cheese made from casein concentrates obtained by acid diafiltration. *J. Dairy Sci.*, 104(6), 6598-6608. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19917>
- Gabrielsen, C., Brede, D. A., Nes, I. F. y Diep, D. B. (2014). Circular Bacteriocins: Biosynthesis and Mode of Action. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(22), 6854–6862. <https://doi.org/10.1128/AEM.02284-14>
- Gaibor Orellana, M. F. (2018). *Incidencia de E. coli O157 y Salmonella spp. en queso semiseco y quesillo artesanal en seis puntos de venta en Tegucigalpa*. [Proyecto especial de graduación de ingeniería, Escuela Panamericana, Zamorano, Honduras]. Repositorio institucional de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/c7cd7611-9c79-4d76-b352-f1d9fc97390a/content>
- Gambogou, B., Taale, E., Anani, K., Kangni-Dossou, M., Simplicite Karou, D. y Ameyapoh, Y. (2023). Microbiological analysis and assessment of the Biotechnological potential of *Lactobacillus* sp. and *Pediococcus* sp. strains isolated from Togolese traditional Zea mays fermented food. *Journal of Food Science and Nutrition Research*, 6(4), 155-164. <https://www.doi.org/10.26502/jfsnr.2642-110000141>
- Gao, Z., Daliri, E., Wang, J., Liu, D., Chen, S., Ye, X. y Ding, T. (2019). Inhibitory Effect of Lactic Acid Bacteria on Foodborne Pathogens: A Review. *Journal of Food Protection*, 82(3), 441-453. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-18-303>
- García Baldizón, C. y Molina Córdoba, M. E. (2008). Estimación de la vida útil de una mayonesa mediante pruebas aceleradas. *Ingeniería*, 18(1, 2), 57-64. ISSN 1409-2441.
- García-Cano, I., Campos-Gómez, M., Contreras-Cruz, M., Serrano-Maldonado, C. E., González-Canto, A., Peña-Montes, C., Rodríguez-Sanoja, R., Sánchez, S. y Farrés, A. (2015). Expression, purification, and characterization of a bifunctional 99-kDa peptidoglycan hydrolase from *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042. *Appl Microbiol Biotechnol*, 99(20), 1-11. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6593-2>
- García Hernández, L. A. (2005). *La globalización productiva y comercial de la leche y sus derivados*. Primera edición. Xochimilco: Plaza y Valdés. 280 págs.
- García Hernández, Y., Pérez Sánchez, T., García Curbelo, Y., Sosa Cossio, D. y Nicoli, J. R. (2017). Capacidad de crecimiento, actividad antimicrobiana y susceptibilidad a antimicrobianos de dos cepas de *Pediococcus pentosaceus*, candidatas a probiótico. *Cuban J. Agric. Sci.*, 51(4). ISSN 2079-3480.

- García, O. (12 de agosto de 2022). *Alerta en Sacatepéquez por 40 posibles casos de intoxicación por consumo de queso*. Guatevisión. <https://www.guatevision.com/nacionales/alerta-en-sacatepequez-por-40-posibles-casos-de-intoxicacion-por-consumo-de-queso-breaking>
- García Ruiz, A. (1998). *Estudio estadístico para predecir el tiempo de maduración del queso manchego, e identificación de la microbiota*. [Tesis de tecnología de alimentos, Universidad de Castilla-La Mancha]. Dialnet. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=65240>
- García Tello, J. I. (2018). *Evaluación de la capacidad antagonista de Lactobacillus aislados de queso de Ocosingo contra patógenos de interés en alimentos*. [Tesis para obtener el título de Químico, Universidad Nacional Autónoma de México]. Dirección General de Repositorios Universitarios UNAM. <https://ru.dgb.unam.mx/server/api/core/bitstreams/ffac4c62-71b2-4da8-a180-0ba8be1b003f/content>
- Garde, S., Ávila, M., Medina, M. y Nuñez, M. (2004). Influence of a bacteriocin-producing lactic culture on the volatile compounds, odour and aroma of Hispánico cheese. *International Dairy Journal*, 15(2005), 1034-1043. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.11.002>
- Gastalver Robles, M C. (2013). *UF1179 – Tratamientos previos de la leche*. 5ta edición. España: Editorial Elearning S.L. 20 págs.
- Girke Jørgensen, M., van Raaphorst, R. y Veening, J. W. (2013). Chapter 6 - Noise and Stochasticity in Gene Expression: A Pathogenic Fate Determinant. *Methods in Microbiology*, 40(2013), 157-175. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417029-2.00006-6>.
- Gomes de Oliveira, L. I., Ribeiro de Araujo, A. R., Colombo Pimentel, T., Capozzi, V., Alves Bezerra, T. K. y Magnani, M. (2025). Probiotics and Prebiotics in Foodborne Illness: Mechanisms, Applications, and Future Directions. *Journal of Food Protection*, 88(9), 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.jfp.2025.100584>
- González Barron, U., Gonçalves-Tenório, A., Rodrigues, V. y Cadavez, V. (2017). Foodborne pathogens in raw milk and cheese of sheep and goat origin: a meta-analysis approach. *Current Opinion in Food Science*, 18, 7-13. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.10.002>
- González Cu, G. R., Molina Sánchez, B. y Coca Vázquez, R. (2010). *Calidad de la leche cruda*. Primer Foro sobre Ganadería Lechera de la Zona Alta de Veracruz. https://www.uv.mx/apps/agronomia/foro_lechero/Bienvenida_files/CALIDADDELALECHECRUDA.pdf

- González Martínez, B. E., Gómez Treviño, M. y Jiménez Salas, Z. (2003). Bacteriocinas de probióticos. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 4(2), 1-9. <https://respyn.uanl.mx/index.php/respyn/article/view/108>
- González Martínez, B. E., Jiménez Salas, Z., Heredia Rojas, N. L., Villareal Treviño, L., García Díaz, G. y Gómez Treviño, M. (2006). Efecto de microorganismos probióticos sobre el crecimiento de *Salmonella enteritidis* var. *Typhimurium*. *Ciencia UANL*, 9(4), 365-374. ISSN 1405-9177.
- González Sánchez, M. (2013). *Elaboración de leches para el consumo*. INAE0209. Primera edición. Málaga: IC Editorial. 228 págs.
- González Villareal, M. (2002). *Tecnología para la elaboración de queso blanco, amarillo y yogurt*. Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación. <https://docplayer.es/4013979-Tecnologia-para-la-elaboracion-de-queso-blanco-amarillo-y-yogurt.html>
- Gotardi Rocha, V., Goes Guedes, G., Dantas Filho, J. V., Domingos de Oliveira, A. V., Gilio Gasparotto, P. H., Cavali, J. y Bianchini Pontuschka, R. (2022). Physicochemical and microbiological quality of refrigerated raw bovine milk commercialized in Presidente Médici, Rondônia state, Western Amazon, Brazil. *Acta Veterinaria Brasilica*, 17(1), 53-61. <https://doi.org/10.21708/avb.2023.17.1.11343>
- Goyal, M. R., Veena, N. y Mishra, S. K. (2024). *Analytical Methods for Milk and Milk Products*. Primera edición. Nueva York: Apple Academic Press. 410 págs.
- Grujović, M. Z., Mladenović, K. G., Jakovljević, V. D. y Čomić, L. R. (2020). Detection of enzymes produced by lactic acid bacteria isolated from traditionally made Serbian cheese and their role in the formation of its specific flavor. *Acta Agriculturae Serbica*, 25(50), 165-169. <https://doi.org/10.5937/AASer2050165G>
- Guinee, T.P., O’Kennedy, B. T. y Kelly, P. M. (2006). Effect of Milk Protein Standardization Using Different Methods on the Composition and Yields of Cheddar Cheese. *J. Dairy Sci.*, 89(2), 468-482. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72110-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72110-5)
- Gutiérrez Coronado, K. A., García-Torres, S. M., Caldas-Cueva, J. P., Campos-Montiel, R. G. y Ludeña-Urquiza, F. E. (2023). Physicochemical, Textural, and Sensory Characteristics of Peruvian Fresh Cheese with Added Probiotic Lactic Acid Bacteria. *Brazilian Journal of Food Technology*, 28, 1-12. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.05424>

- Gutiérrez-Méndez, N., Rodríguez-Figueroa, J. C., González-Córdova, A. F., Nevárez-Moorillón, G. V., Rivera-Chavira, B., y Vallejo-Cordoba, B. (2010). Phenotypic and genotypic characteristics of *Lactococcus lactis* strains isolated from different ecosystems. *Canadian Journal of Microbiology*, 56(5), 432–439. <https://doi.org/10.1139/w10-026>
- Hadawiah Ahmad, S. A., Ab Rahman, M. N. y Azly Muhamed, A. (2020). *Optimal Temperature in Cold Storage for Perishable Foods: Proceedings of the 5th NA International Conference on Industrial Engineering and Operations Management*. Industrial Engineering and Operations Management Society International. https://www.researchgate.net/publication/344311697_Optimal_Temperature_in_Cold_Storage_for_Perishable_Foods
- Hamdaoui, N., Benkirane, C., Bouaamali, H., Azghar, A., Mouncif, M., Maleb, A., Hammouti, B., Mashay Al-Anazi, K., Kumar, P., Kumar Yadav, K., Ryeol C., J. y Meziane, M. (2024). Investigating lactic acid bacteria genus *Lactococcus lactis* properties: Antioxidant activity, antibiotic resistance, and antibacterial activity against multidrug-resistant bacteria *Staphylococcus aureus*. *Heliyon*, 10(11), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e31957>
- Hickey, C. D., Sheehan, J. J., Wilkinson, M. G. y Auty, M. A. E. (2015). Growth and location of bacterial colonies within dairy foods using microscopy techniques: a review. *Food Microbiology*, 6(99), 1-8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00099>
- Holle, M. J., Ibarra-Sánchez, L. A., Liu, X., Stasiewicz, M. J. y Miller, M. J. (2018). Microbial analysis of commercially available US Queso Fresco. *J. Dairy Sci.*, 101(9), 7736-7745. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14037>
- Hosseini, H., Mahmoudi, R., Pakbin, B., Manafi, L., Hosseini, S., Pilevar, Z. y Brück, W. M. (2024). Effects of intrinsic and extrinsic growth factors on virulence gene expression of foodborne pathogens in vitro and in food model systems; a review. *Food Science and Nutrition*, 12(9), 6093-6107. <https://doi.org/10.1002/fsn3.4281>
- Hough, G. y Fiszman, S. (2005). *Estimación de la vida útil sensorial de alimentos*. Primera edición. Madrid: Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. 114 págs.
- Hu, L. y Zang, G. (2024). Effect of Selective Enrichment Storage Temperature and Duration Time on the Detection of *Salmonella* in Food. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 107(3), 471-478. <https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsae014>
- Huang, H. H., Furuta, M., Nasu, T., Hirono, M., Pruet, J., Minh Duc, H., Zhang, Y., Masuda, Y., Honjoh, K. y Miyamoto, T. (2021). Inhibition of phage-resistant bacterial pathogen re-growth with the combined use of bacteriophages and EDTA. *Food Microbiology*, 100, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103853>

- Ibrahim, S. A. (2016). Lactic Acid Bacteria: *Lactobacillus* spp.: Other Species. *Reference Module in Food Science*. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.%3C?show>
- Instituto Nacional de Estadística Guatemala -INE-. (2017). *Propuesta de Nueva Canasta Básica Alimentaria (CBA) y metodología de costo de adquisición*. Instituto Nacional de Estadística Guatemala -INE-. https://www.ine.gob.gt/ine/wp-content/uploads/2018/01/Nueva_CBA_PopuestaINE.pdf
- Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá -INCAP-. (2012). *Base de Datos Tablas de Composición Nutricional de Alimentos: Queso Fresco de vaca*. Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá -INCAP-. www.incap.int/index.php/es/.../80-tabla-decomposicion-de-alimentos-de-centroamerica
- Jalilzadeh, A., Tunçtürk, Y. y Hesari, J. (2015). Extension Shelf Life of Cheese: A Review. *International Journal of Dairy Science*, 10(2), 44-60. <https://doi.org/10.3923/ijds.2015.44.60>
- James Beardsley, R. (2017). *Growth of E. coli in reduced salt cheddar cheese*. [Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencias de Alimentos, Universidad de Pretoria]. Repositorio de la Universidad de Pretoria. <https://repository.up.ac.za/server/api/core/bitstreams/47aee1cb-2fd9-4cae-88a5-6ac09d692536/content>
- Järvenpää, S., Tahvonen, R. L., Ouwehand, A. C., Sandell, M., Järvenpää, E. y Salminen, S. (2007). A Probiotic, *Lactobacillus fermentum* ME-3, Has Antioxidative Capacity in Soft Cheese Spreads with Different Fats. *Journal of Dairy Science*, 90(7), 3171-3177. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-810>
- Jurášková, D., Ribeiro, S. C. y Silva, C. C. G. (2022). Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria: From Biosynthesis to Health-Promoting Properties. *Foods*, 11(2), 1-23. <https://doi.org/10.3390/foods11020156>
- Juric, M., Bertelsen, G., Mortensen, G. y Petersen, M. A. (2003). Light-induced colour and aroma changes in sliced, modified atmosphere packaged semi-hard cheeses. *International Dairy Journal*, 13(2-3), 239-249. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00156-5](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00156-5)
- Juricova, H., Matiasovicova, J., Faldynova, M., Sebkova, A., Kubasova, T., Pikrylova, H., Karasova, D., Crhanova, M., Havlickova, H. y Rychlik, I. (2022). Probiotic Lactobacilli Do Not Protect Chickens against *Salmonella* Enteritidis Infection by Competitive Exclusion in the Intestinal Tract but in Feed, Outside the Chicken Host. *Microorganisms*, 10(2), 1-13. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020219>

- Kalit, S., Tudor Kalit, M., Dolenčić Špehar, I., Salajpal, K., Samaržija, D., Anušić, J. y Rako, A. (2021). The Influence of Milk Standardization on Chemical Composition, Fat and Protein Recovery, Yield and Sensory Properties of Croatian PGI Lički Škripavac Cheese. *Foods*, 10(4), 1-10. <https://doi.org/10.3390/foods10040690>
- Kang, D. H. y Fung, D. Y. (2000). Application of thin agar layer method for recovery of injured *Salmonella typhimurium*. *International journal of food microbiology*, 54(1-2), 127-32. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00174-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00174-9)
- Kareem Niamah, A. (2018). Structure, mode of action and application of pediocin natural antimicrobial food preservative: A review. *Basrah Journal of Agricultural Sciences*, 31(1), 59-69. ISSN 2520-0860.
- Katiku, M. M., Matofari, J. W., y Nduko, J. M. (2022). Preliminary evaluation of probiotic properties and safety profile of *Lactiplantibacillus plantarum* isolated from spontaneously fermented milk, Amabere amaruranu. *Heliyon*, 8(2022), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10342>
- Kaya, H. I. y Simsek, O. (2020). Characterization of *Pediococcus acidilactici* PFC69 and *Lactococcus lactis* PFC77 Bacteriocins and Their Antimicrobial Activities in Tarhana Fermentation. *Microorganisms*, 8(1083). [doi:10.3390/microorganisms8071083](https://doi.org/10.3390/microorganisms8071083).
- Kemperman, R., Kuipers, A., Karsens, H., Nauta, A., Kuipers, O. y Kok, J. (2003). Identification and Characterization of Two Novel Clostridial Bacteriocins, Circularin A and Closticin 574. *App Environ. Microbiol.*, 69(3), 1589-1597. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.3.1589-1597.2003>
- Khalid, N. M. y Marth, E. H. (1990). *Lactobacilli* - Their Enzymes and Role in Ripening and Spoilage of Cheese: A Review. *J. Dairy Sci.*, 73(10), 2669-2684. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78952-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78952-7)
- Khelissa, S., Chihib, N. E. y Gharsalloui, A. (2020). Conditions of nisin production by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and its main uses as a food preservative. *Archives of Microbiology*, 203(2), 465-480. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02054-z>
- Khemariya, P., Singh, S., Nath, G. y Gulati, A. K. (2016). *A review on industrially important Lactococcus lactis. General information, metabolism and genotypic identification tools*. Primera edición. Anchor Academic Publishing. ISBN: 978-3-96067-538-9. 26 págs.
- Khemariya, P., Singh, S., Nath, G. y Gulati, A. K. (2017). Probiotic *Lactococcus lactis*: A Review. *Turkish Journal of Agriculture -Food Science and Technology*, 5(6), 556-562. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v5i6.556-562.690>

- Kho, K., Darwanti, A., Donald, M., Tria, I., Martin, L., Chrisdianto, M., Pratama, F. y Partha, P. (2024). The Potential of *Pediococcus acidilactici* Cell-Free Supernatant as a Preservative in Food Packaging Materials. *Foods*, *13*(5), 1-19. <https://doi.org/10.3390/foods13050644>
- Khorshidian, N., Khanniri, E., Mohammadi, M., Mortazavian, A. M. y Yousefi, M. (2021). Antibacterial Activity of Pediocin and Pediocin-Producing Bacteria Against *Listeria monocytogenes* in Meat Products. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 1-16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.709959>
- Kondrotiene, K., Zavistanaviciute, P., Aksomaitiene, J., Novoslavskij, A. y Malakauskas, M. (2024). *Lactococcus lactis* in Dairy Fermentation—Health-Promoting and Probiotic Properties. *Fermentation*, *10*(1), 1-39. <https://doi.org/10.3390/fermentation10010016>
- Kongo, J. M. (2013). *Lactic Acid Bacteria as Starter-Cultures for Cheese Processing: Past, Present and Future Developments*. InTech. <http://dx.doi.org/10.5772/55937>
- Kosisochukwu Anumudu, C., Miri, T. y Onyeaka, H. (2024). Multifunctional Applications of Lactic Acid Bacteria: Enhancing Safety, Quality, and Nutritional Value in Foods and Fermented Beverages. *Foods*, *13*(23), 1-35. <https://doi.org/10.3390/foods13233714>
- Kozak, K. (2015). *Statistics Using Technology*. Segunda edición. Parkes: Lulu.com. 458 págs.
- Lara Mollinedo, B. E. (2017). *Elaboración y comercialización de queso fresco con loroco (Fernalia pandurata) en la ciudad de Cobán, Alta Verapaz*. [Trabajo de graduación de producción pecuaria, Universidad de San Carlos de Guatemala]. Repositorio institucional de la Universidad de San Carlos de Guatemala. http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/17/17_0941.pdf
- Lawrance, R. C., Creamer, L. K. y Gilles, J. (1986). Texture Development During Cheese Ripening. *Journal of Dairy Science*, *70*(8), 1748-1760. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(87\)80207-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)80207-2)
- Le Quéré, J. L. y Molimard, P. (2002). *CHEESE | Cheese flavour*. Encyclopedia of Food Microbiology. Primera edición. Londres: Academic Press. 330-340. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227235-8/00069-9>
- Li, W., Ren, M., Duo, L., Li, J., Wang, S., Sun, Y., Li, M., Ren, W., Hou, Q., Yu, J., Sun, Z. y Sun, T. (2020). Fermentation Characteristics of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* Isolated From Naturally Fermented Dairy Products and Screening of Potential Starter Isolates. *Frontiers in Microbiology*, *11*(1194), 1-12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01794>

- Lisak, K., Toro-Sierra, J., Kulozik, U., Božanic, R. y Chelulei Cheison, S. (2013). Chymotrypsin selectively digests β -lactoglobulin in whey protein isolate away from enzyme optimal conditions: Potential for native α -lactalbumin purification. *Journal of Dairy Research*, 80(1), 14-20. <https://doi.org/10.1017/s0022029912000416>
- Llorente-Bousquets, A., Pérez Munguía, S. y Pérez, A. (2008). Novel extracellular proteolytic activity in *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042. *Canadian Journal of Microbiology*, 54(8), 694-699. <https://cdnsiencepub.com/doi/10.1139/W08-055>
- Lluis Arroyo, D., Flores Nájera, A., Cruz Guerrero, A., Gallardo-Escamilla, F., Lobato Calleros, C., Jiménez Guzmán, J. y García Garibay, M. (2011). Effect of an exopolysaccharide-producing strain of *Streptococcus thermophilus* on the yield and texture of Mexican manchego-type cheese. *International Journal of Food Properties*, 17, 1680-1693. <http://dx.doi.org/10.1080/10942912.2011.599091>
- Loghman, S., Moayedi, A., Mahmoudi, M., Khomeiri, M., Gómez-Mascaraque, L. G. y Garavand, F. (2022). Single and Co-Cultures of Proteolytic Lactic Acid Bacteria in the Manufacture of Fermented Milk with High ACE Inhibitory and Antioxidant Activities. *Fermentation*, 8(9), 1-13. <https://doi.org/10.3390/fermentation8090448>
- López Barón, F. N., Sepúlveda Valencia, J. U. y Restrepo Molina, D. A. (2010). Ensayo y Funcionalidad de un Sustituyente de Sólidos No Grasos Lácteos en una Mezcla para Helado. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 63(2), 5729-5744. ISSN 0304-2847.
- López Damián, F. J. y López Salazar, J. R. (2021). *Influencia del uso de los inhibidores naturales en la calidad microbiológica de quesos frescos*. [Trabajo de titulación de ingeniería, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. Repositorio Académico de la producción intelectual de la Comunidad Politécnica Chimborazo. <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/15522/1/27T00474.pdf>
- López Ruiz, A. L. y Barriga Velo, D. (2016). *La leche. Composición y características*. Primera edición. España: Instituto de Investigación y Formación agraria y Pesquera. 34 págs.
- Macaluso, G., Fiorenza, G., Gaglio, R., Mancuso, I. y Scatassa, M. L. (2016). *In Vitro* Evaluation of Bacteriocin-Like Inhibitory Substances Produced by Lactic Acid Bacteria Isolated During Traditional Sicilian Cheese Making. *Ital J Food Saf*, 5(1), 20-22. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2016.5503>
- Madera, P., García, T., Janzen, A., Rodríguez, S., y Suárez, J. (2003). Characterization of technologically proficient wild *Lactococcus lactis* strains resistant to phage infection. *Int. J. Food Microbiol.* 86, 213–222. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00042-4](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00042-4).

- Magariños, H. (2010). *Producción higiénica de la leche cruda, una guía para la pequeña y mediana empresa*. Primera edición. México, D.F.: Organización de Estados Americanos. 95 págs.
- Malaka, R., Hatta, W. y Baco, S. (2017). Properties and Microstructure of Dangke Fresh Cheese Made with Passion Fruits Juice as Coagulant. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 5(4), 602-606. ISSN: 2319-1473.
- Manglik, R. (2024). *Technology of Milk and Milk Products*. Primera edición. Uttar Pradesh: EduGorilla Publication. 189 págs.
- Mantzourani, I., Daoutidou, M., Terpou, A. y Plessas, S. (2024). Evaluation of a Novel Potentially Probiotic/*Pediococcus acidilactici* ORE5 in Lactic Acid Fermentation of Cornelian Cherry Juice: Assessment of Nutritional Properties, Physicochemical Characteristics, and Sensory Attributes. *Fermentation*, 10(12), 1-11. <https://doi.org/10.3390/fermentation10120650>
- Marianelli, C., Cifani, N. y Pasquali, P. (2010). Evaluation of antimicrobial activity of probiotic bacteria against *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *typhimurium* 1344 in a common medium under different environmental conditions. *Research in Microbiology*, 161(8), 673-680. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2010.06.007>
- Márquez, J. y García, C. (2007). Efecto de la nisina sobre la microflora patógena del queso blanco artesanal tipo “telita” elaborado en una quesera de Upata, Estado Bolívar, Venezuela. *Revista de la sociedad venezolana de microbiología*, 27(2), 108-111. ISSN 1315-2556.
- Martín del Campo, C., Gómez, H. E. y Alaníz de la O, R. (2008). Bacterias ácido lácticas con capacidad antagónica y actividad bacteriocinogénica aisladas de quesos frescos. *E-Genosis*, 6(5), 1-17. ISSN 1665-5745.
- Martínez Lozano, J. C. y Trujillo Sifontes, M. F. (2017). *Determinación de la bioconservación de quesos frescos de Metapan, utilizando una cepa probiótica Lactobacillus rhamnosus Howaru™ frente Listeria monocytogenes ATCC 19118*. [Tesis de química y farmacia, Universidad de El Salvador]. Repositorio Institucional Universidad de El Salvador. <https://repositorio.ues.edu.sv/server/api/core/bitstreams/cd059c55-bcd3-42d2-af81-1f7204d0a611/content>
- Malbrán, C. G. (2012). *Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por difusión*. Servicios Antimicrobianos. <https://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/02-METODO-DE-DETERMINACION-DE-SENSIBILIDAD-ANTIMICROBIAN-A-POR-DIFUSION-2012.pdf>

- Mateluna, R. (2006). *Estudio de actividad antibacteriana de potenciales biocontroles sobre bacterias acéticas involucradas en la pudrición ácida de la uva*. [Tesis de ingeniería, Universidad de Chile]. Repositorio Académico de la Universidad de Chile. <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/105609/estudio-de-actividad-antibacteriana-de-potenciales.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Maya Plaza, I. M. (2021). *Bioconservación de queso fresco mediante *Lactococcus lactis* UQ2 y un recubrimiento activo*. [Tesis en ciencia y tecnología de alimentos, Universidad Autónoma de Querétaro]. Repositorio Institucional Universidad Autónoma de Querétaro. <https://ri-ng.uaq.mx/xmlui/bitstream/handle/123456789/3251/FQMAC-290737-0122-222-Mayra%20Maya%20Plaza%20%20-A.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- McCarthy, O. J. (2003). *MILK | Physical and Physicochemical Properties*. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. Segunda edición. Londres: Academic Press. 1812-1821. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227235-8/00334-5>
- McSweeney, P. L. H., Cotter, P. D., Everett, D. W. y Govindasamy-Lucey, R. (2017). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. 14va edición. Londres: Academic Press. 1360 págs.
- Meera, N. S. y Devi, M. C. (2021). Detection, optimization and characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus fermentum* a strain isolated from home made curd- indian traditional food. *Paripex – Indian Journal of Research*, 10(10), 34-38. ISSN 2250-1991.
- Mei, J., Guo, Q., Wu, Y., Li, Y. y Yu, H. (2015). Study of Proteolysis, Lipolysis, and Volatile Compounds of a Camembert-type Cheese Manufactured Using a Freeze-dried Tibetan Kefir Co-culture during Ripening. *Food Sci. Biotechnol.*, 24(2), 393-402. <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0052-9>
- Mejía-López, A., Rodas, S. y Baño, D. (2017). La desnaturalización de las proteínas de la leche y su influencia en el rendimiento del queso fresco. *Enfoque UTE*, 8(2), 121-130. <https://doi.org/10.29019/enfoqueute.v8n2.162>
- Merchán Castellanos, N. A., Pineda Gómez, L. M., Cárdenas Parra, A. K., González Neiza, N. C., Otálora Rodríguez, M. C. y Sánchez Neira, Y. (2018). Microorganismos comúnmente reportados como causantes de enfermedades transmitidas por el queso fresco en las Américas, 2007-2016. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 56(1). <https://revedepidemiologia.sld.cu/index.php/hie/article/view/171>
- Merchán, N., Zurymar, S., Niño, L. y Urbano, E. (2019). Determinación de la inocuidad microbiológica de quesos artesanales según las normas técnicas colombianas. *Rev. Chil. Nutr.*, 46(3), 288-294. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182019000300288>

- Mikelsaar, M., Zilmer, M., Kullisaar, Annuk, H. y Songisepp, E. (2002). *Strain of microorganism Lactobacillus fermentum me-3 as novel antimicrobial and antioxidative probiotic*. University of Tartu. <https://patentimages.storage.googleapis.com/a5/2e/ca/d7a44798393cba/US7244424.pdf>
- Min, M., Brunt, C. R., Mason, S. L., Bennett, G. N. y Hussain, M. A. (2017). Effect of Non-Dairy Food Matrices on the Survival of Probiotic Bacteria during Storage. *Microorganisms*, 5(3), 1-7. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5030043>
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación -MAGA-. (1998). *Propuesta integral para el mejoramiento de calidad de leche*. Instituto Americano de Cooperación para la Agricultura (IICA). <https://hdl.handle.net/11324/11615>
- Mohamed, D. A., Ibrahim, E. M., Abdou, A. M. y Mohammed, H. A. (2013). Effect Of *Pediococcus Acidilactici* And Its Bacteriocin On Soft Cheese Quality And Validity. *Benha Veterinary Medical Journal*, 25(1), 64-76. https://www.researchgate.net/publication/280597751_Effect_of_pediococcus_acidilactici_and_its_bacteriocin_on_soft_cheese_quality_and_validity
- Molina, L. H., González, R., Brito, C., Carrillo, B. y Pinto, M. (2001). Correlación entre la termoestabilidad y prueba de alcohol de la leche a nivel de un centro de acopio lechero. *Arch. Ed. Vet.*, 33(2). <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2001000200012>
- Molloy, E. M., Hill, C., Cotter, P. D. y Ross, R. P. (2011). *Bacteriocins*. Encyclopedia of Dairy Sciences. Segunda edición. Londres: Academic Press. 420-429.
- Mondragón Preciado, G., Escalante Minakata, P., Osuna Castro, J. A., Ibarra Junquera, V., Morlett Chávez, J. A., Aguilar González, C. N. y Rodríguez Herrera, R. (2013). Bacteriocinas: características y aplicación en alimentos. *Investigación y Ciencia*, 21(59), 64-70. ISSN 1665-4412.
- Montenegro, A. I. (2021). *Uso de probióticos en la reducción de la carga de Salmonella abaeetuba en retoños de soya y alfalfa*. [Trabajo de graduación de ingeniería, Universidad del Valle de Guatemala]. Repositorio Institucional Universidad del Valle de Guatemala. <https://metaflip.metabiblioteca.com/index2.php?pdf=https://repositorio.uvg.edu.gt/server/api/core/bitstreams/da3d7d6a-1c60-4c68-824b-cd9c2b2e2f84/content?authentication-token=null>
- Montoya Villafañe, H. H. (2008). *Microbiología básica para el área de la salud y afines*. Segunda edición. Medellín: Editorial Universidad de Antioquia. 254 págs.

- Mora, R. A. (2018). Aspectos relevantes sobre *Salmonella* sp en humanos. *Revista Cubana de Medicina General*, 34(3). ISSN 1561-3038.
- Moreno Quishpi, M. M. (2022). *Efecto de la nisina como conservante natural en el queso fresco*. [Trabajo de titulación de ingeniería, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. Repositorio Académico de la producción intelectual de la Comunidad Politécnica Chimborazo. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/17968/1/27T00555.pdf>
- Mosquera Rentería, L. M., Cardona Bermúdez, L. M., Passaro Carvalho, C. y Rivera Narváez, C. M. (2019). *Probióticos y prebióticos en acuicultura*. Sistema de Investigación, Desarrollo Tecnológico e Innovación. https://revistas.sena.edu.co/index.php/Encuentro/article/download/2198/2503/864_0
- Naghmouchi, K., Belguesmia, Y., Bendali, F., Spano, G., Seal, B. S., y Drider, D. (2019). *Lactobacillus fermentum*: a bacterial species with potential for food preservation and biomedical applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–13. Doi: [10.1080/10408398.2019.1688250](https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1688250).
- Nakamura, S., Morimoto, Y. V. y Kudo, S. (2015). A lactose fermentation product produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, acetate, inhibits the motility of flagellated pathogenic bacteria. *Microbiology Society*, 161(4), 701-707. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000031>
- Namshir, B., Kim, G. H., Lkhagvasuren, N., Jeong, S., Mijid, N. y Kim, W. S. (2025). Fermentation and Functional Properties of Plant-Derived *Limosilactobacillus fermentum* for Dairy Applications. *Fermentation*, 11(5), 1-17. <https://doi.org/10.3390/fermentation11050286>
- Naranjo Mora, J. C. (2008). *Efecto de los probióticos Lactobacillus acidophilus y Bifidobacterium bifidum en las características físico-químicas y sensoriales de queso Cheddar Zamorano*. [Tesis de ingeniería, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano]. Repositorio institucional de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/07b833ae-6c58-4ca6-8349-87ab0042ad7d/content>
- Negrón, M. (2018). *Microbiología estomatológica*. 2da edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana. 656 págs.
- Neyaz, L. A., Alghamdi, H. S., Alghashmari, R. M., Alswat, S. S., Almaghrabi, R. O., Bazaid, F. S., Albarakaty, F. M., Elbanna, K. y Abulreesh, H. H. (2024). A Comprehensive Review on the Current Status of Culture Media for Routine Standardized Isolation of *Salmonella* and *Shigella* spp. from Contaminated Food. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences*, (2024). <https://doi.org/10.1007/s43994-024-00205-2>

- Obed Matute, I. A., Obando, J., Piura, W. y Sánchez Matute, P. D. (2018). Determinación de la presencia/ausencia de antibióticos y sustancias extrañas en la leche y producto terminado de las plantas productoras de lácteos en Juticalpa, Olancho, Honduras el año 2017. *Revista Portal de la Ciencia*, 14, 96-110. <https://www.semanticscholar.org/paper/Determinaci%C3%B3n-de-la-presencia-ausencia-de-y-en-la-y-Matute-Ayala/55771e9567b762eed6271ec5644b13af94a69a1>
- Ortega Escobar, A. I. (2017). *Actividad antimicrobiana de enzimas recombinantes generadas a partir de una proteína bifuncional producida por *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042*. [Tesis para obtener el título de Química, Universidad Nacional Autónoma de México]. Dirección General de Repositorios Universitarios UNAM. <https://ru.dgb.unam.mx/server/api/core/bitstreams/0c89961c-3520-4c19-9afd-29ce0b47c5f3/content#:~:text=2.2%20Efecto%20antimicrobiano%20de%20Pediococcus%20acidilactici%20ATCC,peptidoglucano%20hidrolasa%20intracelular%20%5BGarc%C3%ADa%2DCano%20et%20al%2C%202011%5D>.
- Osorio Gutiérrez, K. (2018). *Producción de probióticos mediante el cocultivo de *L. plantarum* BAL-03 y *L. fermentum* BAL-21*. [Reporte de residencia profesional de ingeniería, Tecnológico Nacional de México]. Repositorio Institucional del Tecnológico Nacional de México. <http://repositoriodigital.tuxtla.tecnm.mx/xmlui/bitstream/handle/123456789/3305/MDRPIBQ2017041.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Oteo, J. y Alós, J. I. (2001). *Listeria y listeriosis*. Control de Calidad SEIMC. <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/listeria.pdf>
- Pakroo, S., Tarrah, A., Takur, R., Wu, M., Corich, V. y Giacomini, A. (2022). *Limosilactobacillus fermentum* ING8, a Potential Multifunctional Non-Starter Strain with Relevant Technological Properties and Antimicrobial Activity. *Foods*, 11(703), 1-13. <https://doi.org/10.3390/foods11050703>
- Palacios Robledo, K. P. (2019). *Capacidad antagónica de *Lactobacillus fermentum* sobre bacterias patógenas de interés en alimentos*. [Tesis para optar al grado de Maestro, Universidad Nacional Autónoma de México]. Dirección General de Repositorios Universitarios UNAM. <https://ru.dgb.unam.mx/server/api/core/bitstreams/d5d475b9-e3d7-487a-b66c-ed60c8092905/content>
- Panizzolo, L. A., Araújo, A. C., Taroco, L. V., Rodríguez, A. y Schöp, G. (2011). Evolución de la proteólisis durante la maduración de quesos Danbo elaborados con distintos cultivos iniciadores. *INNOTEC*, (6), 24-27. ISSN 1688-3691.

- Papadopoulou, O. S. y Chorianopoulos, N. G. (2016). Production of a Functional Fresh Cheese Enriched with the Probiotic Strain *Lb. plantarum* T571 Isolated from Traditional Greek Product. *Curr. Res. Nutr Food Sci Jour*, 41(SI. 2), 169-181. [https://www.foodandnutritionjournal.org/pdf/vol4noSpecialissue2/Vol4_Conference_Spl\(2\)_p_169-181.pdf](https://www.foodandnutritionjournal.org/pdf/vol4noSpecialissue2/Vol4_Conference_Spl(2)_p_169-181.pdf)
- Parada, R., Beraud, L., Andoro, D., Sosa, F., Marguet, E. y Vallejo, M. (2018). Actividad antimicrobiana de bacterias ácido lácticas aisladas de invertebrados marinos de la costa del Chubut (Patagonia – Argentina). *Bionatura*, 2(4), 456-459. <https://revistabionatura.com/files/2017.02.04.8.pdf>
- Pardo, M. E. (2005). *Guía de procesos para la elaboración de productos lácteos*. Primera edición. Bogotá: Convenio Andrés Bello. 40 págs.
- Parmar, P., Lopez Villalobos, N., Tobin, J. T., Murphy, E., McDonagh, A., Crowley, S. V., Kelly A. L. y Shalloo, L. (2020). The Effect of Compositional Changes Due to Seasonal Variation on Milk Density and the Determination of Season-Based Density Conversion Factors for Use in the Dairy Industry. *Foods*, 9(8), 1-12. <https://doi.org/10.3390/foods9081004>
- Parra Huertas, R. A. (2010). Review. Bacterias ácido lácticas: Papel funcional en los alimentos. *Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 8(1). ISSN 1692-3561.
- Paulo, E. M., Vasconcelos, M. P., Oliveira, I. S., de Jesus Affe, H. M., Nascimento, R., Soares de Melo, I., de Abreu Roque, M. R. y de Assis, S. A. (2012). An alternative method for screening lactic acid bacteria for the production of exopolysaccharides with rapid confirmation. *Food Sci. Technol*, 32(4), 710-714. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612012005000094>
- Paz, A. A. (2022). *Práctica #3: Control de calidad de lácteos. “Evaluación sensorial de queso fresco, Determinación de grasa, humedad, pH, acidez y sal en queso fresco. Análisis de un lácteo sorpresa”*. Universidad del Valle de Guatemala.
- Pedraza, J., Pereira Sanandres, N., Soto Varela, Z., Hernández Aguirre, E. y Villareal Camacho, J. (2014). Aislamiento microbiológico de *Salmonella* spp. y herramientas moleculares para su detección. *Salud Uninorte*, 30(1), 73-94. ISSN 2011-7531.
- Peng, S., Stephan, R., Hummerjohann, J., Blanco, J. y Zweifel, C. (2012). *In vitro* characterization of Shiga toxin-producing and generic *Escherichia coli* in respect of cheese production-relevant stresses. *Journal of Food Safety and Food Quality*, 63(5), 136-141. <https://doi.org/10.2376/0003-925X-63-136>
- Peng, Z., Xiong, T., Huang, T., Xu, X., Fan, P., Qiao, B. y Xie, M. (2022). Factors affecting production and effectiveness, performance improvement and mechanisms of action of bacteriocins as food preservative. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(33), 1-15. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2100874>

- Peralta Canchis, L. P. (2014). *Actividad antagonica de bacterias ácido lácticas aisladas del queso fresco artesanal frente a Listeria monocytogenes y Escherichia coli*. [Tesis de ciencias biológicas, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco]. Repositorio Institucional Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/955>
- Picazo, J. J. (2003). *Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a antimicrobianos*. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología clínica. <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>
- Pinherio, J. S., Rocha, L. G., de Andrade, D. R., Rotta, P. P., Rezende, J. P., Pires, A. C. S. y Marcondes, M. I. (2022). Unveiling unstable non-acid incidence in Holstein cows fed with corn silage or sugarcane. *J. Dairy Sci.*, 105(11), 9226-9239. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-21821>
- Plank, R. (2005). *El empleo del frío en la industria de la alimentación*. Primera edición. Barcelona: Editorial Reverté. 820 págs.
- Pluta-Kubica, A., Najgebauer-Lejko, D., Domagała, J., Štefániková, J. y Golian, J. (2022). The Effect of Cow Breed and Wild Garlic Leaves (*Allium ursinum* L.) on the Sensory Quality, Volatile Compounds, and Physical Properties of Unripened Soft Rennet-Curd Cheese. *Foods*, 11(24), 1-14. <http://dx.doi.org/10.3390/foods11243948>
- Poggio Ruiz, T. (2015). *UF1178 - Recepción y almacenamiento de la leche y otras materias primas*. 5ta edición. España: Editorial Elearning S.L. 630 págs.
- Prats, G. (2007). *Microbiología clínica*. Primera edición. Madrid: Editorial Médica Panamericana. 400 págs.
- Prince, A., Sandhu, P., Ror, P., Dash, E., Sharma, S., Arakha, M., Jha, S., Akhter, Y. y Saleem, M. (2016). Lipid-II Independent Antimicrobial Mechanism of Nisin Depends On Its Crowding And Degree Of Oligomerization. *Scientific reports*, 6(37908). <https://doi.org/10.1038/srep37908>
- Pujato, S. A., Mercanti, D. J., Marcó, M. B., Luján Capra, M., Quiberoni, A. y Guglielmotti, M. (2024). Bacteriocins from lactic acid bacteria: strategies for the bioprotection of dairy foods. *Frontiers in Food Science and Technology*, 4, 1-8. <https://doi.org/10.3389/frfst.2024.1439891>
- Pulido, R., Pinzón, D. M. y Tarazona, M. P. (2018). Caracterización nutricional, microbiológica y sensorial de queso fresco. *Nutrición clínica y dietética hospitalaria*, 38(3), 74-79. ISSN 0211-6057.

- Puma Isuiza, G. G., Liñan Pérez, J. F., Coavoy Sánchez, I., Coronado Olano, J., Salas Valerio, W. F. y Vargas Delgado, L. F. (2018). Vida en anaquel de galletas saladas utilizando pruebas aceleradas. *Anales científicos*, 79(1), 218-225. <https://doi.org/10.21704/ac.v79i1.1166>
- Pumarola, A., Rodríguez-Torres, A., García Rodríguez, J. A. y Piedrola-Angulo, G. (1992). *Microbiología y parasitología médica*. Segunda edición. Barcelona: Masson S.A. 916 págs.
- Rabbani, A., Ayyash, M., Costa, C., Chen, G., Xu, Y. y Kamal-Eldin, A. (2025). Effect of Heat Pasteurization and Sterilization on Milk Safety, Composition, Sensory Properties, and Nutritional Quality. *Foods*, 14(8), 1-30. <https://doi.org/10.3390/foods14081342>
- Raccach, M. (2014). *Pediococcus*. Encyclopedia of Food Microbiology. Segunda edición. Nueva York: Academic Press. 1-5. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00247-0>
- Ramírez López, C. y Vélez Ruiz, J. F. (2012). Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 6 (2), 131 – 148. https://www.researchgate.net/publication/303959697_Quesos_frescos_propiedades_y_metodos_de_determinacion_y_factores_que_afectan_su_calidad
- Ramírez, L. S. y Marín Castaño, D. (2009). Metodologías para evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et Technica*, 15(42), 263-268. ISSN 0122-1701.
- Ramírez Navas, J. S., Aguirre Londoño, J., Aristizábal-Ferreira, V. A. y Castro Narváez, S. (2017). La sal en el queso: Diversas Interacciones. *Agron. Mesoam.*, 28(1), 303-316. <https://doi.org/10.15517/am.v28i1.21909>
- Rasheed, H. A., Tuoheti, T., Li, Z., Tekliye, M., Zhang, Y. y Dong, M. (2021). Effect of Novel Bacteriocinogenic *Lactobacillus fermentum* BZ532 on Microbiological Shelf-Life and Physicochemical and Organoleptic Properties of Fresh Home-Made Bozai. *Foods*, 10(9), 1-12. <https://doi.org/10.3390/foods10092120>
- Rayat, C. S. (2018). *Measures of Dispersion*. In: *Statistical Methods in Medical Research*. Primera edición. Singapur: Springer. 158 págs.
- Reale, A., Di Renzo, T., Rossi, F., Zotta, T., Iacumin, L., Preziuso, M., Parente, E., Sorrentino, E. y Coppola, R. (2015). Tolerance of *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* and *Lactobacillus rhamnosus* strains to stress factors encountered in food processing and in the gastro-intestinal tract. *LWT - Food Science and Technology*, 60(2), 721–728. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.10.022>

- Reglamento Técnico Centroamericano (2017). *RTCA 67.04.50:17. Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de los alimentos*. Reglamento Técnico Centroamericano. <https://www.mspas.gob.gt/normativas-vigentes-control-alimentos?task=download.send&id=1321&catid=287&m=0>
- Revilla, A. (1996). *Tecnología de la Leche: Procesamiento, Manufactura y Análisis*. Segunda edición. San José: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. 400 págs.
- Rivera de la Cruz, J. F., Villegas de Gante, A., Miranda Romero, L. A. y García Cué, J. L. (2017). Identificación de bacterias acidolácticas antagónicas de *Salmonella enterica* var. *Typhimurium* aisladas de queso artesanal. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(4), 785-797. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i4.7>
- Robledo López, A. (2015). *Investigación de Salmonella spp. en alimentos mediante el método tradicional ISO 6579 y dos métodos inmunoenzimáticos*. [Trabajo de graduación de agricultura, Universitat Politècnica de Catalunya]. Tesis publicadas Universitat Politècnica de Catalunya. <https://upcommons.upc.edu/server/api/core/bitstreams/fla4cce0-eb3c-446c-bb36-a8951770f110/content>
- Rodríguez Angeles, G. (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Pública de México*, 44(5), 464-475. ISSN 0036-3634.
- Rodríguez Gómez, J. M. (2008). *Microorganismos y salud: Bacterias lácticas y bifidobacterias probióticas*. Primera edición. Madrid: Editorial Complutense, S.A. 222 págs.
- Rodríguez González, M. (2009). *Aislamiento y selección de cepas del género Lactobacillus con capacidad probiótica e inmunomoduladora*. [Tesis doctoral de ingeniería, Universitat Autònoma de Barcelona]. Repositorio Universitat Autònoma de Barcelona, Doctorados. <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/3931/mrg1de1.pdf>
- Rodríguez Guerra, A. y Martínez, F. S. (2020). Responsabilidad social y gestión ambiental del agua, solución en la industria de lácteos de Ecuador. *Rev. Inv. Cs. Agro. y Vet.*, 4(12). <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v4i12.85>
- Ruiz, D., Tessaro, L., do Amaral Sobral, P. J., Uscátegui, Y., Diaz, L. E. y Valero, M. F. (2025). Testing the Shelf Life of Mozzarella-Type Cheese Packaged with Polyurethane-Based Films with Curcumin. *Polymers*, 17(10), 1-17. <https://doi.org/10.3390/polym17101342>

- Ruíz Díaz, F., Rubio Cieza, M. Y. y Pérez Pérez, R. D. (2018). *Efectos del proceso de elaboración de queso en el contenido proteico y microbiológico del lactosuero*. [Informe final de investigación, Universidad Nacional Autónoma de Chota]. Repositorio Digital Universidad Nacional Autónoma de Chota. <https://repositorio.unach.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14142/290/Suero.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Sabouri, N., Yamini, Y., Reza Ehsani, M. y Bakhoda, H. (2023). Determination of volatile compounds in white brine cheese and ultrafiltered cheese during ripening and shelf-life using nano-adsorbent fibers. *J Food Sci Technol.*, 61(3), 573-584. <https://doi.org/10.1007/s13197-023-05865-2>
- Sáez Orviz, S. (2016). *Estudio genómico de Lactobacillus plantarum LL441 y caracterización de locus de la plantaricina C*. [Trabajo de graduación de biotecnología, Universidad de Oviedo]. Repositorio Institucional de la Universidad de Oviedo. https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/38518/TFM_SaraSaezOrviz.pdf?sequence=6&isAllowed=y
- Samaržija, D., Antunac, N. y Lukac Havranek, J. (2001). Taxonomy, physiology and growth of *Lactococcus lactis*: a review. *Mljekarstvo*, 51(1), 35-48. https://www.researchgate.net/publication/26456859_Taxonomy_physiology_and_growth_of_Lactococcus_lactis_A_review
- Sancak, Y.C., Sancak, H. e Isleyici, O. (2015). Presence of *Escherichia coli* O157 and O157:H7 in raw milk and Van herby cheese. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*. 59(4), 511–514. <https://doi.org/10.1515/bvip-2015-0076>
- Sánchez, M. T., Ruiz, M. A. y Morales, M. E. (2015). Microorganismos probióticos y salud. *Ars Pharm*, 56(1). <https://dx.doi.org/10.4321/S2340-98942015000100007>
- Sánchez Rodríguez, J. A., Serrano, S., Marfil, R. y Jodral, M. L. (2013). *Patógenos emergentes en la línea de sacrificio de porcino*. Primera edición. Madrid: Ediciones Díaz de Santos, S. A. 224 págs.
- Santamaría Vanegas, J., Comba González, N. y Pérez Mancilla, X. C. (2014). *Microbiología general: Principios básicos de laboratorio*. Primera edición. Bogotá: Editorial Utadeo. 292 págs.
- Schmidt, K., Stupar, J., Shirley, J., Adapa, S. y Sukup, D. (1996). Factors affecting titratable acidity in raw milk. *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports*, 0(2), 60-62. <https://doi.org/10.4148/2378-5977.3265>
- Selle, K. M., Klaenhammer, T. R. y Russell, W. M. (2014). *LACTOBACILLUS | Lactobacillus acidophilus*. Encyclopedia of Food Microbiology. Segunda edición. Londres: Academic Press. 412-417. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00179-8>

- Seo, H. J. y Kang, S. S. (2020). Inhibitory effect of bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* on the biofilm formation of *Salmonella Typhimurium*. *Food control*, 117, 1-34. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107361>
- Serrano, S. y Marfil, R. (2003). *Diseño del plan de limpieza y desinfección de un matadero de porcino*. Primera edición. Córdoba: Servicio de publicaciones de la Universidad Córdoba. 410 págs.
- Settanni, L. y Corsetti, A. (2008). Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation. *International journal of food microbiology*, 121(2), 123-138. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.09.001>
- Shaikh, A., Kumar Jain, A. y Parmar, S. (2023). *Chapter 4 - Traditional applications of enzymes in dairy science and technology*. Primera edición. Londres: Academic Press. 578 págs.
- Shapwa, K. M. (2022). Antimicrobial effect of selected probiotic strains on *Salmonella typhimurium* and *E. Coli* O157:H7 isolated in a commercial slaughterhouse in Windhoek, Namibia. [Tesis para optar al grado académico de Maestría, Universidad de Namibia]. University of Namibia Repository. <https://repository.unam.edu.na/server/api/core/bitstreams/5d30e8f1-21ac-4226-b391-721e67c221d7/content>
- Sionek, B., Szydłowska, A., Trzaskowska, M. y Kołożyn-Krajewska, D. (2024). The Impact of Physicochemical Conditions on Lactic Acid Bacteria Survival in Food Products. *Foods*, 10(6), 1-17. <https://doi.org/10.3390/fermentation10060298>
- Smit, G., Smit, B. A. y Engels, W. J. M. (2005). Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(3), 591-610. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2005.04.002>
- Sobeih, A. M. K., Ibrahim, E. M. A y Elbarbary, H. A. (2011). Effect Of *Lactobacillus Acidophilus* On Shelf-Life Of Low Salt Soft Cheese. *Assiut Vet Med. J.*, 57(130), 1-15. https://avmj.journals.ekb.eg/article_176653_dd041a1e72e901df7f26e2a67d0304f2.pdf
- Sommers, B. (2019). *The influence of lactic acid bacteria on the cheese texture during ripening*. [Tesis de tecnología en alimentos, Universidad Wageningen]. Wageningen University and Research: MSc theses online. <https://edepot.wur.nl/468938>
- Sriphochanart, W., Skolpap, W., Scharer, J. M., Young, M. M. y Douglas, P. L. (2011). Effect of amino acid requirements on the growth and lactic acid production of *Pediococcus acidilactici* culture. *African Journal of Microbiology Research*, 5(22), 3815, 3822. ISSN 1996-0808.

- Sudeepa, E. S. y Bhavini, K. (2020). Review on *Lactobacillus fermentum*. *International Journal Of Advance Research And Innovative Ideas In Education*, 6(3), 719-726. ISSN 2395-4396.
- Sunthornthummas, S., Doi, K., Rangsiruji, A., Sarawaneeyaruk, S., y Pringsulaka, O. (2017). Isolation and characterization of *Lactobacillus paracasei* LPC and phage Φ T25 from fermented milk. *Food Control*, 73, 1353–1361. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.10.052>
- Suzuki, A. y Suzuki, M. (2021). Antimicrobial Activity of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* Isolated from a Stranded Cuvier's Beaked Whale (*Ziphius cavirostris*) against Gram-Positive and -Negative Bacteria. *Microorganisms*, 9(2), 1-14. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020243>
- Tenea, G. N., Hurtado, P. y Ortega, C. (2018). Inhibitory Effect of Substances Produced by Native *Lactococcus lactis* Strains of Tropical Fruits towards Food Pathogens. *Prev Nutr Food Sci.*, 23(3), 260-268. <https://doi.org/10.3746/pnf.2018.23.3.260>
- Tille, P. M. (2013). *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. 13va edición. Missouri: Elsevier. 1056 págs.
- Toro Rodríguez, G. G., Ancco Vizcarra, T. y Ramos Huallpartupa, D. J. (2014). Determinación de vida útil en anaquel de pan libre de gluten a base de harina de quinua (*Chenopodium quinoa*) envasado en poletileno y polipropileno. *Ciencia y Desarrollo*, 18(2014), 68-71. <https://revistas.unjbg.edu.pe/index.php/cyd/article/view/454/448>
- Torres Segarra, S. M. y Pacheco Cárdenas, K. E. (2021). *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina en alimentos. *Revista de Investigación en Salud*, 4(12), 457-469. <https://doi.org/10.33996/revistavive.v4i12.106>
- Trujillo Chávez, A. A. (2016). *Análisis microbiológico y resistencia a antimicrobianos del queso fresco que se expende en el mercado de Santa Rosa, Ciudad de Riobamba*. [Trabajo de titulación de ciencias, Escuela Politécnica de Chimborazo]. Repositorio Académico de la producción intelectual de la Comunidad Politécnica Chimborazo. <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/6330/1/56T00673.pdf>
- Turner, K. M., Restaino, L. y Frampton, E. W. (2000). Efficacy of Chromocult Coliform Agar for Coliform and *Escherichia coli* Detection in Foods. *Journal of Food Protection*, 63(4), 539-541. <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028X-63.4.539>
- Upreti, P., Bühlmann, P. y Metzger, L. E. (2006). Influence of Calcium and Phosphorus, Lactose, and Salt-to-Moisture Ratio on Cheddar Cheese Quality: pH Buffering Properties of Cheese. *J. Dairy Sci.*, 90(1), 1-12. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)72603-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)72603-6)

- Valbuena, E., Castro, G., Lima, K., Acosta, W., Bríñez, W., Tovar, A. (2004). Calidad microbiológica de las principales marcas de leche pasteurizada distribuidas en la ciudad de Maracaibo, Venezuela. *Revista Científica*, 14(1), 59-67. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/cientifica/article/view/15027/15004>
- Van Hekken, D. L., Tunick, M. H., Renye Jr., J. A. y Tomasula, P. M. (2017). Characterization of starter-free Queso Fresco made with sodium-potassium salt blends over 12 weeks of 4°C storage. *J. Dairy Sci.*, 100(7), 5153-5166. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12081>
- van Niel, E. W., Hofvendahl, K. y Hahn Hägerdal, B. (2002). Formation and Conversion of Oxygen Metabolites by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435 under Different Growth Conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(9), 4350-4356. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.9.4350-4356.2002>
- Vanilssen, A., Nilstrem, R. y Kuslovic, A. (2020). *Microbiología Médica I: Patógenos y Microbioma Humano*. Primera edición. México, D.F.: Cambridge Standford Books. 666 págs.
- Vásquez, S. A., Suárez, H. y Zapata, S. (2009). Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de carne. *Revista chilena de nutrición*, 36(1), 64-71. ISSN 0717-7518.
- Velásquez, Brenda. (2008). *Determinación de Salmonella spp en queso fresco y de capas producido artesanalmente y distribuido en el mercado La Terminal zona 4*. [Trabajo de graduación de ciencias químicas y farmacia, Universidad San Carlos de Guatemala]. Repositorio institucional de la Universidad de San Carlos de Guatemala. <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QB893.pdf>
- Villamil Parra, A., Cobos de Rangel, O. y Novoa Castro, C. (2015). *Elaboración de quesos reducidos en sodio: pruebas afectivas a consumidores*. Universidad Nacional de Colombia. http://investigacion.bogota.unal.edu.co/fileadmin/recursos/direcciones/investigacion_bogota/documentos/enid/2015/memorias2015/ciencias_agricolas/elaboracion_de_quesos_reducidos_en_sodio_p.pdf
- Wang, C., Gao, L., Gao, Y., Yang, G., Zhao, Z., Zhao, Y., Wang, J. y Li, S. (2022). Evaluation of *Pediococcus acidilactici* AS185 as an adjunct culture in probiotic cheddar cheese manufacture. *Food Science and Nutrition*, 11(3), 1572–1583. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3198>
- Washington State Department of Health. (2015). *Disinfecting and Sanitizing with Bleach Guidelines for Mixing Bleach Solutions for Child Care and Similar Environments*. Washington State Department of Health. <https://doh.wa.gov/sites/default/files/legacy/Documents/8340/970-216-Disinfect-en-L.pdf>

- Webb, L., Ma, L. y Lu, X. (2022). Impact of lactic acid bacteria on the control of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. *Food Quality and Safety*, 6(2022), 1-11. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyac045>
- Wei, G., Wang, D., Wang, T., Wang, G., Chai, Y., Li, Y., Mei, M., Wang, H. y Huang, A. (2025). Probiotic potential and safety properties of *Limosilactobacillus fermentum* A51 with high exopolysaccharide production. *Front. Microbiol.*, 16(1498352). doi: [10.3389/fmicb.2025.1498352](https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1498352).
- Werning, M. L., Hernández-Alcántara, A. M., Ruiz, M. J., Soto, L. P., Dueñas, M. T., López, P. y Frizzo, L. S. (2022). Biological Functions of Exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria and Their Potential Benefits for Humans and Farmed Animals. *Foods*, 11(9), 1-34. <https://doi.org/10.3390/foods11091284>
- Wolffs, P. T. G., Glencross, K., Thibaudeau, R. y Griffiths, M. W. (2006). Direct Quantitation and Detection of Salmonellae in Biological Samples without Enrichment, Using Two-Step Filtration and Real-Time PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(6), 3896–3900. <https://doi.org/10.1128/AEM.02112-05>
- Wong Cho, S., Yang, J., Park, S., Kim, B. y Woo Seo, S. (2019). Complete Genome Sequence of Lactic Acid Bacterium *Pediococcus acidilactici* Strain ATCC 8042, an Autolytic Anti-bacterial Peptidoglycan Hydrolase Producer. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 24(3), 483-487. <https://doi.org/10.1007/s12257-019-0037-2>
- Wong Villareal, A., Corzo González, H., Hernández Núñez, E., González, A. y Giacomán Vallejos, G. (2021). Caracterización de bacterias ácido lácticas con actividad antimicrobiana aisladas del queso crema de Chiapas, México. *Ciencia UAT*, 15(2), 144-155. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v15i2.1368>
- Yi, R., Pan, Y., Long, X., Tan, F. y Zhao, X. (2020). Enzyme Producing Activity of Probiotics and Preparation of Compound Enzyme. *Journal of Chemistry*, 2020, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2020/91402810020>
- Yilmaz, B., Bangar, S.P., Echegaray, N., Suri, S., Tomasevic, I., Manuel Lorenzo, J., Melekoglu, E., Rocha, J.M. y Ozogul, F. (2022). The Impacts of *Lactiplantibacillus plantarum* on the Functional Properties of Fermented Foods: A Review of Current Knowledge. *Microorganisms*, 10(826), 1-18. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040826>
- Yoneda, I., Nishiyama, M. y Watanabe, T. (2024). Significant Factors for Modelling Survival of *Escherichia coli* in Lake Sediments. *Microorganisms*, 12(6), 1-13. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12061192>

- Yu, X., Sun, Y., Shen, X., Li, W., Cai, H., Guo, S. y Sun, Z. (2024). Effect of different isolation sources of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* on volatile metabolites in fermented milk. *Food Chem X*, 21(2024). <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101224>
- Zacharof, M. P. y Lovitt, R. W. (2012). Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria a Review Article. *APCBEE Procedia*, 2(2012), 50-56. <https://doi.org/10.1016/j.apcbee.2012.06.010>
- Zambrano Dávalos, M. C. (2010). *Elaboración de un queso fresco con la utilización de un fermento probiótico (Lactobacillus acidophilus)*. [Tesis de ingeniería, Escuela Politécnica Nacional]. Repositorio Digital Institucional de la Escuela Politécnica Nacional. <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/1929/1/CD-2816.pdf>
- Zhang, Y., Zheng, S., Chen, J., Cheng, Z., Liu, F. y Jiao, Y. (2024). Inhibition effect of aerobic respiratory *Lactococcus lactis* on *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium* SL 1344 and its intestinal colonization ability. *Food Science and Technology*, 199(2024), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116102>
- Zimmerman, T. e Ibrahim, S. A. (2021). Autolysis and Cell Death Is Affected by pH in *L. reuteri* DSM 20016 Cells. *Foods*, 10(5), 1-10. <https://doi.org/10.3390/foods10051026>

XV. Apéndice

Cuadro 20. Mediciones fisicoquímicas de la leche empleada en la experimentación

Fecha	Mediciones de pH			Medición de ácido láctico (mL)		Porcentaje de ácido láctico (%)		Grados Dornic (°D)	
10/07/2025	6.57	6.54	6.53	0.15	0.16	0.013	0.014	1.50	1.60
17/07/2025	6.46	6.47	6.47	0.10	0.10	0.009	0.009	1.00	1.00
08/08/2025	6.58	6.59	6.59	0.20	0.22	0.018	0.020	2.00	2.20
08/08/2025	6.63	6.63	6.63	0.12	0.20	0.011	0.018	1.20	1.50
16/08/2025	6.49	6.48	6.48	0.10	0.15	0.009	0.014	1.00	1.50
30/08/2025	6.61	6.62	6.61	0.20	0.17	0.018	0.015	2.00	1.70
01/10/2025	6.55	6.54	6.57	0.20	0.21	0.018	0.019	2.00	2.00

Cuadro 21. Composición determinada de la leche empleada en la experimentación

Fecha	No. medición	Grasa (%)	Densidad (g/L)	Sólidos No Grasos (%)	Proteína (%)
10/07/2025	1	3.42	1029	8.16	2.92
	2	3.29	1030	8.40	3.01
	3	3.09	1030	8.29	2.97
17/07/2025	1	2.71	1032.1	8.74	3.13
	2	2.72	1032.6	8.87	3.18
08/08/2025	1	6.58	1029.7	8.25	2.95
	2	6.59	1030.8	8.53	3.06
	3	6.59	1031.3	8.60	3.08
08/08/2025	1	3.76	1033.2	9.24	3.32
	2	3.77	1033.2	9.25	3.33
	3	3.70	1033.6	9.32	3.35
16/08/2025	1	3.49	1029.4	8.24	2.95
	2	3.25	1030.6	8.49	3.04
	3	3.01	1031.1	8.57	3.07
30/08/2025	1	3.84	1031.7	8.90	3.20
	2	3.82	1031.2	8.75	3.14
	3	3.78	1032.0	8.95	3.22
01/10/2025	1	3.06	1031.2	8.60	3.08
	2	3.11	1031.3	8.62	3.09
	3	3.43	1030.0	8.59	3.08

Cuadro 22. Análisis microbiológicos de la leche empleada en la experimentación

Fecha	<i>Salmonella</i> spp.				<i>Escherichia coli</i>	
	Caldo Rappaport Agar Rambach	Caldo Tetracionato Agar Rambach	Caldo Rappaport Agar XLD	Caldo Tetracionato Agar XLD	Dilución 10 ⁻¹	Dilución 10 ⁻²
10/07/2025	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	0	0
17/07/2025	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	0	0
08/08/2025	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	0	0
08/08/2025	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	0	0
16/08/2025	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	0	0
30/08/2025	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	0	0
01/10/2025	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	0	0

Cuadro 23. Resultados de las pruebas de antagonismo para *Escherichia coli* ATCC 25922

Probiótico	No. medición	Spot test	Prueba de difusión
		Largo del halo (cm)	Largo del halo (cm)
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> ATCC BAA-52	1	0.60	0.50
	2	0.65	0.40
	3	0.70	0.45
	4	0.70	0.40
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> ATCC 334	1	1.10	0.50
	2	0.80	0.40
	3	0.80	0.40
	4	0.90	0.45
<i>Pediococcus acidilactici</i> ATCC 8042	1	0.90	0.45
	2	0.75	0.50
	3	0.80	0.50
	4	0.75	0.50
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Lactis</i> ATCC 19435	1	0.85	0.45
	2	1.00	0.40
	3	1.10	0.55
	4	0.80	0.55
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> ATCC 8014	1	0.90	0.35
	2	1.00	0.35
	3	0.70	0.00
	4	0.80	0.00
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	1	0.80	0.40
	2	1.05	0.35
	3	0.00	0.40
	4	0.90	0.35
<i>Lactobacillus fermentum</i> ATCC 9338	1	0.70	0.30
	2	0.80	0.35
	3	0.70	0.40
	4	0.95	0.60

Cuadro 24. Resultados de las pruebas de antagonismo para *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

Probiótico	No. medición	Spot test	Prueba de difusión
		Largo del halo (cm)	Largo del halo (cm)
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> ATCC BAA-52	1	0.70	0.50
	2	0.70	0.55
	3	0.65	0.60
	4	0.60	0.45
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> ATCC 334	1	0.00	0.60
	2	0.00	0.25
	3	0.00	0.15
	4	0.00	0.50
<i>Pediococcus acidilactici</i> ATCC 8042	1	0.90	0.40
	2	0.60	0.30
	3	0.70	0.50
	4	0.65	0.45
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Lactis</i> ATCC 19435	1	0.70	0.60
	2	0.40	0.40
	3	0.50	0.40
	4	0.60	0.50
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> ATCC 8014	1	0.80	
	2	0.65	
	3	0.75	
	4	0.50	
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	1	0.47	
	2	0.90	
	3	0.80	
	4	0.80	
<i>Lactobacillus fermentum</i> ATCC 9338	1	0.60	
	2	0.90	
	3	0.75	
	4	0.70	

Cuadro 25. Recuentos microbiológicos de *Escherichia coli* ATCC 25922 en los quesos frescos elaborados

Hora de medición	Tratamiento	Dilución	Recuento microbiológico (UFC/g)	Promedio (UFC/g)	log UFC/g
0.5	Control	10 ⁷	1.00	1.00	7.00
		10 ⁷	0.00		
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10 ⁶	1.00	1.00	6.00
		10 ⁶	1.00		
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10 ⁵	3.00	4.00	5.60
10 ⁵		5.00			
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10 ⁵	4.00	3.00	5.48	
	10 ⁵	1.00			
Mezcla de probióticos	10 ⁶	10.0	8.00	6.90	
	10 ⁶	5.00			
0	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10 ⁷	747	690	9.84
		10 ⁷	633		
24	Control	10 ⁶	3.00	4.00	6.60
		10 ⁶	5.00		
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10 ⁶	1.00	1.00	6.00
		10 ⁶	0.00		
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10 ⁴	1.00	3.00	4.48
10 ⁴		5.00			
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10 ⁴	2.00	6.00	4.78	
	10 ⁴	9.00			
Mezcla de probióticos	10 ⁶	7.00	10.0	7.00	
	10 ⁶	13.0			
168	Control	10 ⁶	3.00	2.00	6.30
		10 ⁶	1.00		
96	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10 ⁴	11.0	11.0	5.04
		10 ⁴	11.0		
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10 ⁴	2.00	1.00	4.00
		10 ⁴	0.00		
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10 ³	2.00	2.00	3.30	
	10 ³	2.00			
Mezcla de probióticos	10 ⁶	0.00	1.00	6.00	
	10 ⁶	1.00			
264	Control	10 ⁶	2.00	2.00	6.30
		10 ⁶	2.00		
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10 ⁵	1.00	1.00	5.00
		10 ⁵	1.00		
<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10 ⁴	1.00	1.00	4.00	
	10 ⁴	0.00			
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10 ³	1.00	2.00	3.30	
	10 ³	2.00			

	Mezcla de probióticos	10 ⁶ 10 ⁶	2.00 0.00	1.00	6.00
312	Control	10 ⁵ 10 ⁵	13.0 15.0	14.0	6.15
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10 ⁵ 10 ⁵	3.00 2.00	2.00	5.30
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10 ⁴ 10 ⁴	2.00 4.00	3.00	4.48
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10 ⁵ 10 ⁵	1.00 0.00	1.00	5.00
	Mezcla de probióticos	10 ⁵ 10 ⁵	4.00 13.0	9.00	5.95
360	Control	10 ⁵ 10 ⁵	1.00 1.00	1.00	6.00
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10 ⁵ 10 ⁵	1.00 1.00	1.00	5.00
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10 ⁴ 10 ⁴	2.00 3.00	3.00	4.78
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10 ⁵ 10 ⁵	0.00 1.00	1.00	5.00
	Mezcla de probióticos	10 ⁶ 10 ⁶	2.00 0.00	1.00	6.00
0.5	Control	10 ⁶ 10 ⁶	2.00 2.00	2.00	6.30
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10 ⁶ 10 ⁶	5.00 4.00	5.00	6.70
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10 ⁶ 10 ⁶	3.00 2.00	3.00	6.48
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10 ⁶ 10 ⁶	2.00 5.00	4.00	6.60
	Mezcla de probióticos	10 ⁶ 10 ⁶	5.00 2.00	4.00	6.60
0	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10 ⁸ 10 ⁸	73.0 76.0	75.0	9.88
24	Control	10 ⁶ 10 ⁶	2.00 3.00	3.00	6.48
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10 ⁵ 10 ⁵	15.0 13.0	14.0	6.15
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10 ⁶ 10 ⁶	4.00 2.00	3.00	6.48
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10 ⁶ 10 ⁶	2.00 0.00	1.00	6.00
	Mezcla de probióticos	10 ⁶ 10 ⁶	2.00 2.00	2.00	6.30
168	Control	10 ⁵ 10 ⁵	11.0 2.00	7.00	5.85

96	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10 ⁶ 10 ⁶	22.0 13.0	18.0	6.26
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10 ⁵ 10 ⁵	48.0 20.0	34.0	6.53
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10 ⁵ 10 ⁵	33.0 57.0	45.0	5.65
	Mezcla de probióticos	10 ⁵ 10 ⁵	21.0 23.0	22.0	5.34
264	Control	10 ⁵ 10 ⁵	6.00 1.00	4.00	5.48
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10 ⁵ 10 ⁵	2.00 1.00	2.00	5.30
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10 ⁵ 10 ⁵	1.00 0.00	1.00	5.00
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10 ⁵ 10 ⁵	6.00 1.00	4.00	5.60
	Mezcla de probióticos	10 ⁵ 10 ⁵	3.00 1.00	2.00	5.30
312	Control	10 ⁶ 10 ⁶	1.00 1.00	1.00	6.00
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10 ⁵ 10 ⁵	1.00 1.00	1.00	5.00
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10 ⁵ 10 ⁵	2.00 16.0	9.00	5.95
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10 ⁵ 10 ⁵	3.00 4.00	4.00	5.60
	Mezcla de probióticos	10 ⁶ 10 ⁶	2.00 0.00	1.00	6.00
360	Control	10 ⁴ 10 ⁴	278 224	251	6.40
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10 ⁵ 10 ⁵	1.00 1.00	1.00	5.00
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10 ⁵ 10 ⁵	8.00 10.0	9.00	5.95
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10 ⁵ 10 ⁵	4.00 4.00	4.00	5.60
	Mezcla de probióticos	10 ⁴ 10 ⁴	91.0 87.0	89.0	5.95

Nota: En este cuadro se presentan los resultados de ambas repeticiones realizadas durante la experimentación.

Cuadro 26. Recuentos microbiológicos de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 en los quesos frescos elaborados

Hora de medición	Tratamiento	Dilución	Recuento microbiológico (UFC/g)	Promedio (UFC/g)	log UFC/g
0.5	Control	10^7	4.00	4.00	7.60
		10^7	3.00		
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10^7	2.00	5.00	7.70
		10^7	7.00		
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10^7	5.00	4.00	7.60
10^7		2.00			
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10^7	4.00	3.00	7.48	
	10^7	2.00			
Mezcla de probióticos	10^8	5.00	3.00	8.48	
	10^8	0.00			
0	<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	10^{10}	3.00	4.00	10.6
		10^{10}	4.00		
24	Control	10^7	9.00	7.00	7.85
		10^7	5.00		
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10^7	1.00	1.00	7.00
		10^7	0.00		
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10^7	4.00	4.00	7.60
10^7		4.00			
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10^7	2.00	3.00	7.48	
	10^7	3.00			
Mezcla de probióticos	10^7	1.00	3.00	7.48	
	10^7	4.00			
96	Control	10^7	8.00	6.00	7.78
		10^7	3.00		
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10^7	6.00	7.00	6.85
		10^7	8.00		
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10^6	8.00	14.0	7.15
10^6		20.0			
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10^7	3.00	4.00	7.60	
	10^7	4.00			
Mezcla de probióticos	10^6	16.0	40.0	7.60	
	10^6	64.0			
240	Control	10^6	10.0	11.0	7.04
		10^6	11.0		
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10^6	6.00	8.00	6.90
		10^6	9.00		
<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10^6	6.00	8.00	6.90	
	10^6	9.00			
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10^6	11.0	10.0	7.00	
	10^6	9.00			

	Mezcla de probióticos	10 ⁶ 10 ⁶	14.0 13.0	14.0	7.15
312	Control	10 ⁶ 10 ⁶	10.0 10.0	10.0	7.00
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10 ⁶ 10 ⁶	11.0 5.00	8.00	6.90
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10 ⁶ 10 ⁶	15.0 15.0	15.0	7.18
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10 ⁶ 10 ⁶	10.0 14.0	12.0	7.08
	Mezcla de probióticos	10 ⁶ 10 ⁶	11.0 7.00	9.00	6.95
552	Control	10 ⁶ 10 ⁶	15.0 13.0	14.0	7.15
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10 ⁶ 10 ⁶	9.00 3.00	6.00	6.78
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10 ⁶ 10 ⁶	6.00 10.0	8.00	6.90
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10 ⁶ 10 ⁶	9.00 7.00	8.00	6.90
	Mezcla de probióticos	10 ⁶ 10 ⁶	6.00 3.00	5.00	6.70
0.5	Control	10 ⁵ 10 ⁵	1.00 0.00	1.00	5.00
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10 ⁵ 10 ⁵	1.00 0.00	1.00	5.00
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10 ⁵ 10 ⁵	3.00 0.00	2.00	5.30
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10 ⁴ 10 ⁴	8.00 4.00	6.00	4.78
	Mezcla de probióticos	10 ⁴ 10 ⁴	3.00 9.00	6.00	4.78
0	<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	10 ⁹ 10 ⁹	1.00 0.00	1.00	9.00
24	Control	10 ⁵ 10 ⁵	1.00 1.00	1.00	5.00
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10 ⁵ 10 ⁵	1.00 0.00	1.00	5.00
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10 ⁵ 10 ⁵	3.00 4.00	4.00	5.60
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10 ⁵ 10 ⁵	2.00 1.00	2.00	5.30
	Mezcla de probióticos	10 ⁵ 10 ⁵	3.00 0.00	2.00	5.30
	Control	10 ⁵ 10 ⁵	2.00 3.00	3.00	5.48

96	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10 ⁴ 10 ⁴	10.0 7.00	9.00	4.95
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10 ⁴ 10 ⁴	3.00 8.00	6.00	4.78
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10 ⁵ 10 ⁵	1.00 0.00	1.00	5.00
	Mezcla de probióticos	10 ⁵ 10 ⁵	5.00 5.00	5.00	5.70
240	Control	10 ⁵ 10 ⁵	1.00 0.00	1.00	5.00
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10 ⁵ 10 ⁵	1.00 0.00	1.00	5.00
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10 ⁵ 10 ⁵	2.00 4.00	3.00	5.48
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10 ⁵ 10 ⁵	15.0 4.00	10.0	6.00
	Mezcla de probióticos	10 ⁵ 10 ⁵	4.00 0.00	2.00	5.30
312	Control	10 ⁴ 10 ⁴	5.00 12.0	9.00	5.95
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10 ⁵ 10 ⁵	8.00 0.00	4.00	5.60
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10 ⁵ 10 ⁵	2.00 2.00	2.00	5.30
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10 ⁵ 10 ⁵	1.00 0.00	1.00	5.00
	Mezcla de probióticos	10 ⁵ 10 ⁵	2.00 5.00	4.00	5.60
552	Control	10 ⁵ 10 ⁵	2.00 1.00	2.00	5.85
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	10 ⁵ 10 ⁵	5.00 3.00	4.00	5.60
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	10 ⁵ 10 ⁵	2.00 2.00	2.00	5.30
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	10 ⁵ 10 ⁵	2.00 4.00	3.00	5.48
	Mezcla de probióticos	10 ⁵ 10 ⁵	2.00 2.00	2.00	5.30

Nota: En este cuadro se presentan los resultados de ambas repeticiones realizadas durante la experimentación.

Cuadro 27. Mediciones de pH y ácido láctico de los quesos frescos durante el análisis de vida útil

Día	Tratamiento	Mediciones de pH			Medición de ácido láctico (mL)	
0	Control	6.57	6.54	6.53	0.050	0.025
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	6.37	6.38	6.41	0.030	0.020
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	6.38	6.41	6.42	0.010	0.015
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	6.42	6.42	6.44	0.025	0.020
	Mezcla de probióticos	6.33	6.32	6.36	0.050	0.070
4	Control	6.47	6.55	6.58	0.020	0.020
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	6.52	6.49	6.50	0.080	0.050
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	6.50	6.53	6.55	0.080	0.100
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	6.54	6.55	6.53	0.100	0.100
	Mezcla de probióticos	6.47	6.44	6.39	0.050	0.080
9	Control	6.57	6.58	6.58	0.050	0.060
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	6.47	6.44	6.44	0.080	0.080
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	6.49	6.54	6.51	0.050	0.050
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	6.54	6.49	6.55	0.050	0.050
	Mezcla de probióticos	6.50	6.45	6.48	0.050	0.050
14	Control	6.58	6.57	6.57	0.100	0.100
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	6.51	6.52	6.55	0.100	0.100
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	6.61	6.57	6.54	0.100	0.100
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	6.49	6.52	6.53	0.050	0.100
	Mezcla de probióticos	6.55	6.53	6.56	0.100	0.100
16	Control	6.55	6.51	6.53	0.100	0.090
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	6.59	6.55	6.51	0.100	0.090
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	6.54	6.60	6.62	0.090	0.100
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	6.56	6.52	6.54	0.120	0.100
	Mezcla de probióticos	6.60	6.60	6.60	0.080	0.100
18	Control	6.55	6.59	6.57	0.100	0.100
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	6.55	6.57	6.59	0.100	0.100
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	6.58	6.62	6.60	0.900	0.120
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	6.48	6.54	6.51	0.170	0.120
	Mezcla de probióticos	6.71	6.62	6.66	0.120	0.070
20	Control	6.57	6.57	6.59	0.100	0.100
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	6.61	6.62	6.63	0.100	0.100
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	6.64	6.62	6.69	0.100	0.100
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	6.54	6.49	6.46	0.150	0.200
	Mezcla de probióticos	6.76	6.72	6.76	0.100	0.100
25	Control	6.63	6.56	6.59	0.120	0.120
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	6.77	6.79	6.78	0.120	0.150
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	6.69	6.68	6.67	0.180	0.120
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	6.39	6.37	6.38	0.150	0.200
	Mezcla de probióticos	6.71	6.62	6.66	0.070	0.100
	Control	6.62	6.62	6.62	0.150	0.150

29	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	6.95	6.91	6.87	0.200	0.150
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	6.68	6.72	6.69	0.200	0.200
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	6.36	6.29	6.22	0.150	0.200
	Mezcla de probióticos	6.78	6.75	6.80	0.100	0.100
35	Control	6.68	6.62	6.65	0.300	0.200
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	6.98	6.92	6.95	0.250	0.270
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	6.75	6.71	6.73	0.150	0.200
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	6.20	6.16	6.18	0.250	0.180
	Mezcla de probióticos	6.78	6.80	6.81	0.100	0.100
40	Control	-	-	-	-	-
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	-	-	-	-	-
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	-	-	-	-	-
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	6.11	6.09	6.10	0.30	0.30
	Mezcla de probióticos	-	-	-	-	-
45	Control	-	-	-	-	-
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	-	-	-	-	-
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	-	-	-	-	-
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	5.95	5.96	5.97	0.25	0.25
	Mezcla de probióticos	-	-	-	-	-

Cuadro 28. Porcentajes de ácido láctico y propiedades sensoriales de los quesos obtenidas a lo largo del estudio de vida útil

Día	Tratamiento	Porcentaje de ácido láctico (%)		Propiedades sensoriales
0	Control	0.005	0.002	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	0.003	0.002	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	0.001	0.001	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	0.002	0.002	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	Mezcla de probióticos	0.005	0.006	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	Control	0.001	0.002	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	0.007	0.005	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.

4	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	0.007	0.009	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	0.009	0.009	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	Mezcla de probióticos	0.005	0.007	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
9	Control	0.005	0.005	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	0.007	0.007	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	0.005	0.005	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	0.005	0.005	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	Mezcla de probióticos	0.005	0.005	Color blanco, textura firme, sin aroma lácteo y poca presencia de suero.
14	Control	0.009	0.009	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	0.009	0.009	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	0.009	0.009	Color blanco poco amarillo, textura firme, aroma lácteo leve y poca presencia de suero.
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	0.005	0.009	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	Mezcla de probióticos	0.009	0.009	Color blanco amarillento, textura blanda, sin aroma lácteo y poca presencia de suero.
	Control	0.008	0.007	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	0.009	0.008	Color amarillo leve, textura blanda, aroma lácteo leve y poca presencia de suero.

16	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	0.007	0.008	Color amarillo leve, textura blanda, aroma lácteo leve y poca presencia de suero.
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	0.011	0.009	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	Mezcla de probióticos	0.007	0.009	Aroma a etanol, poca presencia de suero, color amarillo intenso y textura blanda.
18	Control	0.009	0.009	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	0.009	0.009	Color amarillo, textura firme, sin aroma lácteo, aroma a leve a vinagre y mucha presencia de suero.
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	0.008	0.010	Aroma a fermentado, color amarillento, mucha presencia de suero y textura blanda.
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	0.015	0.011	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	Mezcla de probióticos	0.012	0.006	Aroma a etanol, mucha presencia de suero, color amarillo intenso y textura blanda.
20	Control	0.009	0.009	Color amarillo leve, textura blanda, aroma lácteo leve y poca presencia de suero.
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	0.009	0.009	Color amarillo, textura firme, sin aroma lácteo, aroma a leve a vinagre y mucha presencia de suero.
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	0.009	0.009	Aroma a fermentado, color amarillento, mucha presencia de suero y textura blanda.
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	0.005	0.009	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	Mezcla de probióticos	0.009	0.009	Aroma a etanol, mucha presencia de suero, color amarillo intenso y textura blanda.
	Control	0.012	0.012	Color amarillo leve, textura blanda, sin aroma lácteo y poca presencia de suero.

25	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	0.011	0.014	Color amarillo intenso, textura firme, aroma fuerte a vinagre y mucha presencia de suero.
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	0.016	0.012	Aroma a fermentado, color amarillento intenso, mucha presencia de suero y textura blanda.
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	0.014	0.018	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	Mezcla de probióticos	0.01	0.006	Aroma a etanol, mucha presencia de suero, color amarillo intenso y textura blanda.
29	Control	0.012	0.016	Color amarillo fuerte, presencia de suero, aroma fuerte a fermentado y textura suave.
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	0.018	0.014	Color amarillo intenso, textura firme, aroma fuerte a vinagre y mucha presencia de suero.
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	0.018	0.020	Aroma a fermentado, color amarillento intenso, mucha presencia de suero y textura blanda.
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	0.016	0.016	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	Mezcla de probióticos	0.010	0.008	Aroma a etanol, mucha presencia de suero, color amarillo intenso y textura blanda.
35	Control	0.025	0.020	Aroma a fermentado, color amarillo intenso, presencia de suero y textura blanda.
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	0.022	0.024	Color amarillo intenso, textura firme, aroma fuerte a vinagre y mucha presencia de suero.
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	0.016	0.016	Aroma a fermentado, color amarillento intenso, mucha presencia de suero y textura blanda.
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	0.023	0.017	Color blanco, textura firme, aroma lácteo y poca presencia de suero.
	Mezcla de probióticos	0.010	0.010	Aroma a etanol, mucha presencia de suero, color amarillo intenso y textura blanda.
	Control	-	-	-

40	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	-	-	-
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	-	-	-
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	0.030	0.029	Color amarillo leve, textura firme, aroma lácteo leve y presencia de suero.
	Mezcla de probióticos	-	-	-
45	Control	-	-	-
	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338	-	-	-
	<i>P. acidilactici</i> ATCC 8042	-	-	-
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	0.024	0.024	Color amarillo, textura firme, sin aroma lácteo, aroma leve a vinagre y presencia de suero.
	Mezcla de probióticos	-	-	-

Cuadro 29. Valoraciones obtenidas en el panel para las 5 muestras evaluadas de queso fresco

Número de panelista	Número de muestra	¿Cuánto le gusta la muestra?	¿Cuánto le gusta el color de la muestra?	¿Cuánto le gusta el olor de la muestra?	¿Cuánto le gusta la textura de la muestra?	¿Cuánto le gusta el sabor de la muestra?
1	598	8	8	9	9	9
2	598	4	9	2	5	4
3	598	6	7	6	8	6
4	598	4	9	5	4	4
5	598	5	5	8	6	5
6	598	3	5	3	2	2
7	598	5	6	5	6	6
8	598	4	7	8	4	3
9	598	2	9	7	3	1
10	598	5	7	5	4	4
11	598	5	5	8	6	5
12	598	4	9	2	5	4
13	598	5	8	5	6	4
14	598	3	7	7	7	2
15	598	6	6	6	8	6
16	598	5	5	5	5	5
17	598	6	5	8	6	7
18	598	4	4	5	5	5
19	598	5	7	6	5	5
20	598	6	7	5	6	6
21	598	5	8	5	6	4
22	598	4	4	5	5	5
23	598	4	7	5	6	4
24	598	7	8	8	6	7
25	598	4	7	7	1	6
26	598	9	7	9	9	9
27	598	5	6	5	3	5
28	598	2	8	8	3	2
29	598	3	7	5	4	3
30	598	6	7	7	7	7
31	598	3	7	5	4	2
32	598	4	4	4	4	4
33	598	8	9	8	9	8
34	598	8	9	7	9	9
35	598	2	8	8	3	2
36	598	8	9	8	9	8
37	598	5	5	4	5	3
38	598	9	8	8	8	7

39	598	8	9	9	6	7
40	598	6	8	5	7	3
41	598	4	7	7	7	4
42	598	5	5	8	3	5
43	598	5	5	5	5	4
44	598	1	3	5	6	1
45	598	2	2	5	5	1
46	598	6	9	7	9	4
47	598	8	9	9	6	7
48	598	9	8	8	8	7
49	598	4	8	8	3	3
50	598	8	8	5	7	7
51	598	3	5	5	4	5
52	598	9	9	7	8	7
53	598	6	7	7	6	6
54	598	3	6	5	5	3
55	598	8	8	4	5	4
56	598	5	4	4	4	4
57	598	9	9	9	9	9
58	598	1	1	1	1	1
59	598	5	5	5	5	5
60	598	7	7	7	7	6
DS		2.132	1.901	1.884	2.034	2.138
1	451	4	7	6	5	4
2	451	3	8	7	3	2
3	451	7	8	5	8	2
4	451	6	9	6	7	6
5	451	7	9	5	7	9
6	451	6	7	5	6	6
7	451	5	6	5	5	5
8	451	4	6	5	5	4
9	451	6	7	7	7	6
10	451	5	5	7	6	4
11	451	4	5	5	3	4
12	451	4	6	6	6	6
13	451	7	9	9	8	6
14	451	5	7	6	6	6
15	451	6	9	9	7	5
16	451	9	7	8	9	9
17	451	8	9	9	7	6
18	451	4	4	7	2	2
19	451	6	7	6	5	7
20	451	3	5	3	6	6

21	451	9	9	9	9	9
22	451	4	4	4	4	4
23	451	8	9	9	9	9
24	451	8	9	9	7	6
25	451	6	7	6	5	7
26	451	6	7	6	5	7
27	451	7	8	8	6	4
28	451	5	6	6	5	3
29	451	3	5	4	3	2
30	451	5	4	6	4	5
31	451	4	8	8	5	2
32	451	5	6	5	5	4
33	451	4	8	8	7	6
34	451	7	6	6	6	6
35	451	3	7	5	8	5
36	451	8	7	8	8	5
37	451	3	7	5	8	5
38	451	5	9	5	5	5
39	451	6	7	7	7	8
40	451	6	6	6	7	6
41	451	5	5	4	4	4
42	451	7	6	7	8	7
43	451	6	8	5	6	5
44	451	6	9	7	8	5
45	451	9	7	6	9	9
46	451	2	7	5	6	2
47	451	9	9	9	9	9
48	451	1	5	1	1	1
49	451	6	7	6	6	6
50	451	5	5	6	5	5
51	451	5	5	5	5	1
52	451	3	7	5	4	3
53	451	6	5	6	7	5
54	451	5	7	5	6	5
55	451	6	6	6	6	6
56	451	8	9	9	7	8
57	451	5	5	6	5	5
58	451	9	9	9	9	9
59	451	5	5	6	5	5
60	451	6	7	6	6	6
DS		1.844	1.523	1.673	1.798	2.087
1	145	3	9	7	1	2
2	145	5	7	5	5	5

3	145	6	9	7	8	7
4	145	5	5	6	5	3
5	145	5	7	6	8	5
6	145	5	8	7	4	6
7	145	6	3	7	4	6
8	145	5	7	9	4	3
9	145	3	7	5	4	3
10	145	5	4	4	4	1
11	145	5	9	9	5	2
12	145	4	5	5	6	6
13	145	6	9	7	7	4
14	145	5	5	5	5	5
15	145	9	9	8	9	9
16	145	6	9	7	8	7
17	145	5	5	6	5	3
18	145	5	7	6	8	5
19	145	5	8	7	4	6
20	145	9	7	7	7	7
21	145	9	7	5	9	9
22	145	5	6	6	5	4
23	145	4	7	5	6	4
24	145	3	7	7	7	5
25	145	6	6	4	7	7
26	145	8	7	7	7	8
27	145	5	6	6	5	4
28	145	2	6	5	8	3
29	145	6	8	5	7	6
30	145	4	9	5	4	5
31	145	7	6	6	5	7
32	145	5	5	5	4	3
33	145	5	4	4	4	1
34	145	1	5	2	5	1
35	145	4	9	6	6	5
36	145	6	8	5	7	5
37	145	5	5	5	4	3
38	145	8	4	7	8	6
39	145	7	9	5	9	7
40	145	9	7	8	9	6
41	145	3	9	9	5	3
42	145	6	8	6	6	5
43	145	5	6	6	5	5
44	145	5	5	4	4	4
45	145	5	6	5	6	5

46	145	5	5	5	5	5
47	145	7	9	5	9	7
48	145	5	4	6	6	3
49	145	4	7	6	7	7
50	145	6	7	9	4	6
51	145	6	7	7	8	6
52	145	1	1	4	1	1
53	145	5	5	5	5	5
54	145	9	9	7	7	7
55	145	4	5	4	3	4
56	145	6	6	6	6	6
57	145	6	9	9	9	6
58	145	6	8	7	7	6
59	145	5	6	6	5	3
60	145	5	4	6	6	3
DS		1.743	1.833	1.449	1.894	1.929
1	273	3	5	6	4	4
2	273	7	9	8	7	8
3	273	4	7	7	7	6
4	273	7	9	5	6	8
5	273	1	8	8	4	2
6	273	4	7	5	4	4
7	273	6	8	6	8	5
8	273	7	9	5	6	8
9	273	5	9	8	6	4
10	273	4	5	6	5	3
11	273	4	7	5	6	5
12	273	2	7	4	6	2
13	273	5	5	7	6	5
14	273	5	6	7	6	5
15	273	7	7	6	6	5
16	273	5	5	4	4	4
17	273	6	6	8	8	4
18	273	5	9	8	6	4
19	273	9	9	9	9	9
20	273	6	9	4	9	3
21	273	4	9	6	5	5
22	273	4	7	6	7	4
23	273	1	2	4	1	1
24	273	6	6	6	6	6
25	273	7	4	4	5	6
26	273	7	7	5	7	7
27	273	7	9	8	8	6

28	273	5	7	5	4	5
29	273	6	6	6	6	6
30	273	4	7	6	7	4
31	273	7	4	4	5	6
32	273	4	9	6	5	5
33	273	8	8	8	7	6
34	273	8	8	5	9	7
35	273	8	7	7	8	8
36	273	3	6	5	3	3
37	273	5	7	6	4	4
38	273	5	5	5	5	1
39	273	3	8	5	5	3
40	273	2	7	5	5	2
41	273	9	9	9	9	7
42	273	4	4	3	4	5
43	273	5	7	5	8	5
44	273	4	4	4	4	4
45	273	9	9	9	9	6
46	273	3	8	5	5	3
47	273	3	8	5	5	3
48	273	3	6	5	3	3
49	273	8	9	8	7	8
50	273	9	7	9	9	9
51	273	6	9	6	6	5
52	273	6	8	8	8	6
53	273	5	9	5	7	5
54	273	5	4	5	5	4
55	273	5	5	5	5	5
56	273	1	9	9	8	5
57	273	1	5	5	5	3
58	273	5	3	6	4	2
59	273	4	8	8	5	4
60	273	4	9	6	5	4
DS		2.085	1.827	1.567	1.765	1.882
1	302	9	9	9	6	7
2	302	9	7	9	7	9
3	302	6	5	8	3	5
4	302	7	5	6	4	6
5	302	1	6	2	5	1
6	302	5	7	7	6	5
7	302	4	4	5	5	5
8	302	9	9	9	6	7
9	302	3	8	5	4	3

10	302	4	6	5	7	4
11	302	2	7	5	2	2
12	302	5	9	9	7	4
13	302	5	9	5	7	5
14	302	5	8	5	7	4
15	302	6	5	5	4	7
16	302	3	5	5	2	4
17	302	3	5	7	4	3
18	302	2	7	9	7	6
19	302	3	7	5	5	3
20	302	2	2	5	3	3
21	302	3	8	5	7	4
22	302	1	8	8	2	1
23	302	4	9	7	7	4
24	302	6	6	5	5	5
25	302	7	7	5	6	6
26	302	5	6	5	5	6
27	302	7	7	5	6	6
28	302	6	8	7	7	5
29	302	8	9	8	7	7
30	302	8	7	6	7	7
31	302	4	9	6	4	3
32	302	5	7	5	6	5
33	302	5	6	5	6	5
34	302	8	8	5	7	6
35	302	4	6	5	4	3
36	302	5	5	4	4	4
37	302	9	9	9	9	6
38	302	5	5	4	4	4
39	302	7	8	6	5	6
40	302	3	7	5	6	3
41	302	8	8	5	5	7
42	302	5	5	4	4	5
43	302	5	4	5	3	1
44	302	6	6	6	6	6
45	302	3	7	5	7	6
46	302	8	8	8	6	2
47	302	7	6	7	5	5
48	302	4	8	8	6	4
49	302	7	6	7	6	7
50	302	7	7	7	7	2
51	302	6	9	8	5	5
52	302	3	7	5	7	6

53	302	5	5	4	4	5
54	302	7	6	6	8	6
55	302	7	7	6	6	7
56	302	2	4	5	5	2
57	302	9	9	9	9	8
58	302	7	7	6	6	7
59	302	7	6	6	8	6
60	302	6	9	9	9	6
DS		2.154	1.560	1.644	1.678	1.818

Nota: DS = Desviación estándar.

Cuadro 30. Prueba de Tukey elaborada para el atributo de aceptación general evaluado en los quesos frescos

Comparación de tratamientos	Diferencia de medias	Valor p ajustado
<i>L. fermentum</i> -Control	0.36667	0.8530
<i>L. lactis</i> -Control	0.15000	0.9939
Mezcla de probióticos-Control	-0.13333	0.9961
<i>P. acidilactici</i> -Control	0.11667	0.9977
<i>L. lactis</i> - <i>L. fermentum</i>	-0.21667	0.9759
Mezcla de probióticos- <i>L. fermentum</i>	-0.50000	0.6473
<i>P. acidilactici</i> - <i>L. fermentum</i>	-0.25000	0.9596
Mezcla de probióticos- <i>L. lactis</i>	-0.28333	0.9373
<i>P. acidilactici</i> - <i>L. lactis</i>	-0.03333	0.9999
<i>P. acidilactici</i> -Mezcla de probióticos	0.25000	0.9596

Cuadro 31. Prueba de Tukey elaborada para el atributo de color evaluado en los quesos frescos

Comparación de tratamientos	Diferencia de medias	Valor p ajustado
<i>L. fermentum</i> -Control	0.11667	0.9961
<i>L. lactis</i> -Control	0.66667	0.9996
Mezcla de probióticos-Control	0.23333	0.9486
<i>P. acidilactici</i> -Control	-0.15000	0.9899
<i>L. lactis</i> - <i>L. fermentum</i>	-0.05000	0.9999
Mezcla de probióticos- <i>L. fermentum</i>	0.11667	0.9961
<i>P. acidilactici</i> - <i>L. fermentum</i>	-0.26667	0.9186
Mezcla de probióticos- <i>L. lactis</i>	0.16667	0.9849
<i>P. acidilactici</i> - <i>L. lactis</i>	-0.21667	0.9605
<i>P. acidilactici</i> -Mezcla de probióticos	-0.38333	0.7488

Cuadro 32. Prueba de Tukey elaborada para el atributo de olor evaluado en los quesos frescos

Comparación de tratamientos	Diferencia de medias	Valor p ajustado
<i>L. fermentum</i> -Control	1.5000e-01	0.98750
<i>L. lactis</i> -Control	7.9937e-15	1.00000
Mezcla de probióticos-Control	-5.0000e-02	0.99983
<i>P. acidilactici</i> -Control	-1.0000e-01	0.99737
<i>L. lactis</i> - <i>L. fermentum</i>	-1.5000e-01	0.98751
Mezcla de probióticos- <i>L. fermentum</i>	-2.0000e-01	0.96388
<i>P. acidilactici</i> - <i>L. fermentum</i>	-2.5000e-01	0.92117
Mezcla de probióticos- <i>L. lactis</i>	-5.0000e-02	0.99983
<i>P. acidilactici</i> - <i>L. lactis</i>	-1.0000e-01	0.99737
<i>P. acidilactici</i> -Mezcla de probióticos	5.0000e-02	0.99982

Cuadro 33. Prueba de Tukey elaborada para el atributo de textura evaluado en los quesos frescos

Comparación de tratamientos	Diferencia de medias	Valor p ajustado
<i>L. fermentum</i> -Control	4.3333e-01	0.69679
<i>L. lactis</i> -Control	7.1054e-15	1.00000
Mezcla de probióticos-Control	3.1667e-01	0.87956
<i>P. acidilactici</i> -Control	2.3333e-01	0.95739
<i>L. lactis</i> - <i>L. fermentum</i>	-4.3333e-01	0.69679
Mezcla de probióticos- <i>L. fermentum</i>	-1.1667e-01	0.99685
<i>P. acidilactici</i> - <i>L. fermentum</i>	-2.0000e-01	0.97561
Mezcla de probióticos- <i>L. lactis</i>	3.1667e-01	0.87956
<i>P. acidilactici</i> - <i>L. lactis</i>	2.3333e-01	0.95739
<i>P. acidilactici</i> -Mezcla de probióticos	-8.3333e-02	0.99916

Cuadro 34. Prueba de Tukey elaborada para el atributo de sabor evaluado en los quesos frescos

Comparación de tratamientos	Diferencia de medias	Valor p ajustado
<i>L. fermentum</i> -Control	4.6667e-01	0.69485
<i>L. lactis</i> -Control	1.6667e-02	0.99999
Mezcla de probióticos-Control	-3.3333e-02	0.99998
<i>P. acidilactici</i> -Control	7.1057e-15	1.00000
<i>L. lactis</i> - <i>L. fermentum</i>	-4.5000e-01	0.72299
Mezcla de probióticos- <i>L. fermentum</i>	-5.0000e-01	0.63655
<i>P. acidilactici</i> - <i>L. fermentum</i>	-4.6667e-01	0.69484
Mezcla de probióticos- <i>L. lactis</i>	-5.0000e-02	0.99164
<i>P. acidilactici</i> - <i>L. lactis</i>	-1.6667e-02	0.99990
<i>P. acidilactici</i> -Mezcla de probióticos	3.3333e-02	0.99998

Cuadro 35. Temperaturas de almacenamiento de los quesos frescos

Fecha	Temperatura (°C)
10/07/2025	3.00
17/07/2025	4.20
08/08/2025	3.80
08/08/2025	3.60
16/08/2025	6.10
30/08/2025	3.50
01/10/2025	3.35

Figura 33. Escala hedónica utilizada

Me disgusta muchísimo	Me disgusta mucho	Me disgusta bastante	Me disgusta ligeramente	Ni me gusta ni me disgusta	Me gusta ligeramente	Me gusta bastante	Me gusta mucho	Me gusta muchísimo
1	2	3	4	5	6	7	8	9