



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA

CARRERA DE ALIMENTOS

Tema: Evaluación de las propiedades antimicrobianas del hongo cola de pavo (*Trametes versicolor* (L.) Lloyd) y su aplicación como conservante en queso fresco

Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Andrés Leonardo Arteaga Teneda

Tutor: Mg. Manoella Alejandra Sánchez Garnica

Ambato – Ecuador

Febrero - 2025

APROBACIÓN DEL TUTOR

Mg. Manoella Alejandra Sánchez Garnica

CERTIFICA:

Que el presente Informe Final del Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia en Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 17 de Enero de 2025.



Firmado electrónicamente por:
**MANOELLA ALEJANDRA
SANCHEZ GARNICA**

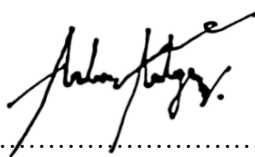
.....
Mg. Manoella Alejandra Sánchez Garnica

0604079871

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Andrés Leonardo Arteaga Teneda, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



.....
Andrés Leonardo Arteaga Teneda

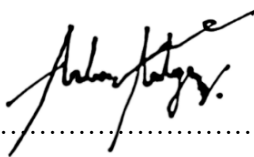
1804353579

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga uso de este Informe Final del Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Andrés Leonardo Arteaga Teneda

1804353579

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia en Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:



Firmado electrónicamente por:
**LANDER VINICIO
PEREZ ALDAS**

.....
Presidente del Tribunal



Firmado electrónicamente por:
**LILIANA ALEXANDRA
CERDA MEJIA**

.....
Dra. Liliana Alexandra Cerda Mejía

1804148086



Firmado electrónicamente por:
**ANDREA VERÓNICA
DELGADO RAMOS**

.....
Mg. Andrea Verónica Delgado Ramos

0401305008

Ambato, 03 de febrero de 2025

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi madre

Andrés Arteaga

AGRADECIMIENTO

A mi madre, por ser el pilar fundamental de mi vida, brindarme su apoyo incondicional y ser mi fuente de inspiración para lograr lo que me proponga.

A la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología; y a quienes la conforman. En especial, a cada uno de los docentes por sus enseñanzas y experiencias enriquecedoras, quienes ayudaron a forjar profesionales y personas de calidad.

A mi tutora Mg. Alejandra Sánchez, por enseñarme que las dificultades se pueden superar con esfuerzo y dar paso a grandes logros. Su guía y paciencia fueron fundamentales durante todo el proceso. De igual forma, agradecer a la Dra. Liliana Cerda, por brindarme la posibilidad de emplear las cepas necesarias para este estudio., y a la Ing. Isabel Guerrero, por su apoyo durante el proceso experimental.

A mis amigos Stiven C., Josué A., Liliana, C., & Michael C., quienes me demostraron el verdadero significado de la amistad y la lealtad. Aunque quizás no caminemos el mismo sendero en un futuro, siempre estarán en mí.

Finalmente, darle gracias a ese niño que algún día soñó con ser arquitecto y terminó siendo ingeniero pese a las dificultades.

Andrés Arteaga

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR.....	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO.....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
RESUMEN EJECUTIVO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
CAPITULO I.- MARCO TEÓRICO	1
1.1. Antecedentes Investigativos	1
1.1.1. <i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd	2
1.1.1.1. Descripción.....	2
1.1.1.2. Taxonomía	3
1.1.1.3. Actividad antimicrobiana	4
1.1.1.4. Aplicaciones alimentarias.....	4
1.1.2. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB)..	4
1.1.2.1. Definición de la CMI	4
1.1.2.2. Métodos de Determinación de la CMI	5
1.1.2.3. Definición de la CMB.....	5
1.1.2.4. Métodos de Determinación de la CMB.....	5
1.1.2.5. Aplicaciones en la industria alimentaria.....	5
1.1.3. Conservantes	6
1.1.3.1. Clasificación de conservantes.....	6
1.1.3.2. Conservantes Naturales.....	7

1.1.4.	Queso fresco.....	7
1.1.4.1.	Descripción.....	7
1.1.4.2.	Consumo.....	7
1.1.4.3.	Susceptibilidad a la contaminación	8
1.1.5.	<i>Escherichia coli</i>	8
1.1.6.	<i>Staphylococcus aureus</i>	8
1.2.	Objetivos.....	10
1.2.1.	Objetivo General	10
1.2.2.	Objetivos Específicos.....	10
2.	CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA	11
2.1.	Materiales	11
2.2.	Métodos	12
2.2.1.	Obtención de un extracto del hongo cola de pavo (<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd).....	12
2.2.2.	Determinación de la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida del extracto contra patógenos alimentarios: <i>Escherichia coli</i> , y <i>Staphylococcus aureus</i>	12
2.2.2.1.	Diluciones de los extractos	12
2.2.2.2.	Activación de las cepas	13
2.2.2.3.	Preparación del inóculo.....	13
2.2.2.4.	Concentración mínima inhibitoria (CMI)	13
2.2.2.5.	Concentración mínima bactericida (CMB)	14
2.2.2.	Análisis de la vida útil de queso fresco que incorpore el extracto como conservante mediante condiciones aceleradas.	14
2.2.3.1.	Desarrollo de un queso fresco incorporando el extracto	14
2.2.3.2.	Determinación del tiempo de vida útil	15
2.2.3.3.	Predicción del tiempo de vida útil.....	15
3.	CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
	CAPITULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	24
	MATERIALES DE REFERENCIA.....	26
	ANEXOS	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía del hongo cola de pavo (<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd).	3
Tabla 2. Recursos materiales.....	11
Tabla 3. Concentración mínima inhibitoria del extracto del hongo cola de pavo (<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 11775 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	19
Tabla 4. Concentración mínima bactericida del extracto del hongo cola de pavo (<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd) frente <i>Escherichia coli</i> ATCC 11775 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	20
Tabla 5. Recuento inicial de <i>E.coli</i> , <i>S. aureus</i> y Enterobacterias para diferentes muestras de queso fresco	21
Tabla 6. Recuento de Enterobacterias para diferentes muestras de queso fresco durante 5 días	22

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd.....	3
Figura 2. Preparación de placa para prueba de microdilución	13
Figura 3. Extracto del hongo cola de pavo (<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd)	17
Figura 4. Microdilución en placa de 96 pocillos para la prueba de concentración mínima inhibitoria en <i>Escherichia coli</i> ATCC 11775 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	18

RESUMEN EJECUTIVO

El consumo excesivo de alimentos procesados con altos niveles de aditivos químicos ha generado preocupación debido a los posibles efectos adversos tanto a corto como a largo plazo en la salud humana. En este contexto, los hongos se han planteado como una alternativa prometedora para la producción de aditivos alimentarios naturales, debido a sus propiedades funcionales y beneficiosas, así como a su capacidad para sustituir los aditivos sintéticos. Con este propósito, se desarrolló un extracto metanólico del hongo cola de pavo (*Trametes versicolor* (L.) Lloyd) mediante el método de maceración, logrando la extracción de metabolitos secundarios junto con el disolvente metanol. Las propiedades antimicrobianas del extracto se evaluaron a través de las pruebas de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) frente a *Escherichia coli* ATCC 11775 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, empleando resazurina como indicador, lo que permitió observar cambios de coloración. Para su aplicación alimentaria, se desarrolló un queso fresco incorporando el extracto del hongo, determinando su tiempo de vida útil mediante el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de Enterobacterias durante 5 días. Además, se utilizó la ecuación de Arrhenius para predecir su estabilidad, comparándola con un método tradicional de conservación como la salmuera. El extracto de *T. versicolor* presentó propiedades antimicrobianas, evidenciadas por la inhibición del crecimiento de las cepas estudiadas de *E. coli* y *S. aureus*, confirmado mediante los ensayos de CMI y CMB. Asimismo, el extracto demostró efectos conservantes en queso fresco comparables a los obtenidos con salmuera, según los resultados obtenidos a través de la predicción del tiempo de vida útil basada en la ecuación de Arrhenius.

Palabras clave: *Trametes versicolor* (L.) Lloyd, propiedades antimicrobianas, conservantes naturales, queso fresco, seguridad alimentaria, vida útil.

ABSTRACT

The excessive consumption of processed foods with high levels of chemical additives has generated concern owing to the potential adverse effects on human health in both the short and long term. In this context, fungi have been proposed as promising alternatives for the production of natural food additives because of their functional and beneficial properties, as well as their ability to replace synthetic additives. For this purpose, a methanolic extract of the turkey tail fungus (*Trametes versicolor* (L.) Lloyd) was developed using the maceration method, which achieved the extraction of secondary metabolites together with the solvent methanol. The antimicrobial properties of the extract were evaluated using the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) against *Escherichia coli* ATCC 11775 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, using resazurin as an indicator, which allowed the observation of coloration changes. For food application, a fresh cheese was developed incorporating the fungus extract, and its shelf life was determined by counting colony forming units (CFU) per gram of Enterobacteriaceae for 5 days. In addition, the Arrhenius equation was used to predict its stability by comparing it with a traditional preservation method such as brine. The *T. versicolor* extract exhibited antimicrobial properties, as evidenced by the inhibition of the growth of the studied strains of *E. coli* and *S. aureus*, as confirmed by MIC and BMC assays. Likewise, the extract showed preservative effects in fresh cheese that were comparable to those obtained with brine, according to the results obtained through the prediction of shelf life based on the Arrhenius equation.

Key words: *Trametes versicolor* (L.) Lloyd, antimicrobial properties, natural preservatives, fresh cheese, food safety, shelf life.

CAPITULO I.- MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes Investigativos

En la actualidad, existe un elevado consumo de alimentos procesados con un gran contenido de aditivos alimentarios, que al ser consumidos en exceso pueden llegar a presentar efectos adversos en la salud de las personas, como alergias o agravar problemas respiratorios como el asma **(Quintana et al., 2023)**. Dentro de la categoría de los aditivos se encuentran los conservantes, clasificados en artificiales y naturales, que tienen como finalidad la conservación de la calidad de un alimento y el alargamiento de su vida útil. Aunque los aditivos sintéticos estén catalogados como seguros, gran parte de estos no han sido probados correctamente. Asimismo, se han realizado hallazgos sobre niveles de toxicidad y carcinogenicidad asociadas a algunos de estos **(Ayala, 2024)**.

En este contexto, los hongos se plantean como una alternativa para la producción de aditivos alimentarios naturales, más allá de su uso en procesos conocidos de elaboración de alimentos como vinos, y quesos madurados; o su amplia utilización en la industria médica. A su vez, estos organismos se destacan por tener una elevada y sencilla producción de metabolitos secundarios que tienen un gran potencial para ser empleados como aditivos alimentarios; y al ser naturales, son seguros para el consumidor **(Cao, 2023)**.

El hongo cola de pavo (*Trametes versicolor* (L.) Lloyd) por su parte, ha ido tomando mayor relevancia en la industria alimentaria debido sus potenciales aplicaciones como: la producción de saborizantes naturales en base a los compuestos producidos por sus enzimas intracelulares y extracelulares, la preparación de suplementos dietéticos con los polisacáridos unidos a las proteínas del hongo o el desarrollo de cerveza sin alcohol. Asimismo, al ser un hongo, está constituido por diversos compuestos bioactivos, los cuales tienen una elevada actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas; y en una gran cantidad de estudios realizados acerca de la actividad antimicrobiana del hongo cola de pavo, dieron resultados efectivos en contra de microorganismos patógenos **(Bains et al., 2021)**. Ja .altarin revisión final nombre{

Por tanto, resulta de gran importancia destacar la potencial aplicación de los hongos a nivel industrial, con mención al área alimentaria y destacando su uso en productos frescos que sean susceptibles a la

contaminación microbiana como el queso fresco. Sin embargo, es necesario un mayor estudio para poder entender el mecanismo involucrado en la actividad antimicrobiana de los extractos de hongos, para poder llegar a obtener agentes antimicrobianos que puedan ser empleados como conservantes. (Mustafin et al., 2022).

En base a la información previamente expuesta, el presente estudio busca aportar al campo de la conservación alimentaria por medio del análisis de las propiedades del hongo cola de pavo y como podrían ser aprovechadas para garantizar alimentos seguros y de calidad, sin comprometer la salud de los consumidores, al tiempo que proporciona una alternativa al uso de conservantes sintéticos en la industria alimentaria.

1.1.1. *Trametes versicolor* (L.) Lloyd

1.1.1.1. Descripción

Trametes versicolor (L.) Lloyd, más conocido comúnmente con el nombre de cola de pavo, pertenece a una especie de hongo lignícola de pudrición blanca. Crece en diversos árboles en época de otoño como robles, abetos y pinos, en donde sus basidios aparecen generalmente en su tronco por alrededor de un año. Esta especie de hongo está catalogada como no comestible. Pese a ello, es considerado como uno de los hongos más reconocidos a nivel global, debido a sus propiedades medicinales y en estudios recientes in vivo, han demostrado que a su vez posee actividad antimicrobiana (Janjušević et al., 2017).

Este hongo se caracteriza por presentar un sombrero con zonas concéntricas de colores variables, como beige, naranja, rojo, marrón, verde y azul, dependiendo de su estado de desarrollo. Su tamaño promedio es de 8 cm de diámetro, con un grosor delgado de 1-4 mm. La superficie porosa presenta de 3 a 6 poros circulares por milímetro, difíciles de distinguir a simple vista, y tubos de hasta 3 mm de profundidad. La carne y las esporas son blancas. Puede confundirse con especies como *Stereum ostrea* (sin poros), *T. hirsuta* (sombrero más grueso y piloso, zonas menos definidas) y *T. pubescens* (poros más grandes y sombrero más grueso y uniforme) (Camp & Bal, 2022).

Figura 1.

Trametes versicolor (L.) Lloyd



Fuente: (Camp & Bal, 2022).

1.1.1.2. Taxonomía

Tabla 1.

Taxonomía del hongo cola de pavo (Trametes versicolor (L.) Lloyd).

Reino	<i>Fungi</i>
Filo	<i>Basidiomycota</i>
Clase	<i>Agaricomycetes</i>
Orden	<i>Polyporales</i>
Familia	<i>Polyporaceae</i>
Género	<i>Trametes</i>
Especie	<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd
Nombre común	Cola de pavo

Fuente: (NBNatlas, 2020).

Nota: La tabla muestra la clasificación taxonómica de la especie *Trametes versicolor* (L.) Lloyd.

1.1.1.3. Actividad antimicrobiana

Los extractos de **Trametes versicolor** han mostrado propiedades antimicrobianas notables frente a microorganismos patógenos como *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Candida albicans*, *Klebsiella pneumoniae*, *L. monocytogenes* y *Streptococcus pneumoniae*, según investigaciones realizadas en animales. Se ha observado que los extractos obtenidos con metanol suelen ser los más efectivos en términos de inhibición microbiana, mientras que las fracciones acuosas tienden a presentar una actividad menor. Esta actividad biológica se atribuye a la complejidad química del extracto, que incluye compuestos como el polisacárido krestina (PSK), complejos de polisacáridos con péptidos, terpenoides y polifenoles, los cuales desempeñan un papel clave en su eficacia (Chu et al., 2002).

1.1.1.4. Aplicaciones alimentarias

Las aplicaciones del hongo resultan innovadoras en la industria alimentaria debido a sus propiedades antioxidantes y su capacidad para mejorar la salud intestinal. Los extractos de este hongo se utilizan en la formulación de alimentos funcionales y suplementos dietéticos, aprovechando sus polisacáridos, como los β -glucanos, que pueden estimular el sistema inmunológico y mejorar la respuesta del cuerpo a patógenos. Además, las enzimas ligninolíticas derivadas del hongo cola de pavo están siendo investigadas para su uso en la degradación de residuos agrícolas, permitiendo la producción de ingredientes alimentarios más sostenibles y la reducción del impacto ambiental (De Silva et al., 2012).

1.1.2. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB)

1.1.2.1. Definición de la CMI

La concentración inhibitoria mínima (CMI) se define como la concentración mínima de un agente microbiano que inhibe el crecimiento y multiplicación de una cepa bacteriana en específico, en un entorno de prueba (Tenover et al., 2005).

1.1.2.2. Métodos de Determinación de la CMI

Para poder determinar la concentración a nivel de laboratorio resulta necesario incubar una cantidad conocida de la cepa bacteriana de estudio, en condiciones de tiempo y temperatura acorde a esta, en conjunto con diluciones seriadas del agente antimicrobiano, en donde los resultados se interpretan como: sensible (crecimiento microbiano inhibido con dosis normal del antimicrobiano), intermedio (el crecimiento microbiano se ha inhibido únicamente con la dosis máxima del antimicrobiano) y resistente (el microorganismo presenta resistencia frente al antimicrobiano). Pudiendo emplearse metodologías como medios de cultivo en caldo o agar, siendo la más empleada la microdilución en caldo (**Idexx, 2023; Tenover et al., 2005**).

1.1.2.3. Definición de la CMB

La concentración inhibitoria bactericida (CMB) viene definida como la concentración mínima de un antimicrobiano que tiene la capacidad de eliminar una cepa bacteriana en específico (**Cantón et al., 2000**).

1.1.2.4. Métodos de Determinación de la CMB

El procedimiento para poder determinar la concentración se fundamenta en colocar a la cepa bacteriana y al agente antimicrobiano en un mismo caldo. Emplea métodos para obtener la CMI, como la dilución o microdilución en caldo, modificándolo acorde al tipo de bacteria de estudio. En este caso se emplea la macrodilución en tubo o microdilución en placa, teniendo como objetivo la comprobación de los tubos o pocillos, en los cuales el agente microbiano haya eliminado los microorganismos y no solo su inhibición (**Cantón et al., 2000**).

1.1.2.5. Aplicaciones en la industria alimentaria

La determinación de la CIM y la CMB es de gran importancia en la industria alimentaria para el desarrollo y evaluación de conservantes naturales y antimicrobianos que puedan extender la vida útil de los productos alimenticios. Estos valores ayudan a identificar las concentraciones efectivas de compuestos antimicrobianos derivados de plantas, hongos y otros microorganismos que pueden inhibir

el crecimiento de patógenos alimentarios comunes como *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes*. Esto resulta de gran relevancia para productos frescos y mínimamente procesados, donde la demanda de conservantes naturales ha aumentado debido a las preferencias de los consumidores por alimentos sin aditivos químicos (Burt, 2004; Gyawali & Ibrahim, 2014).

1.1.3. Conservantes

Los conservantes, tanto naturales como sintéticos, se incorporan a frutas, verduras, alimentos procesados, cosméticos y productos farmacéuticos para extender su vida útil y preservar su calidad y seguridad, deteniendo procesos como fermentación, acidificación, descomposición y contaminación microbiana (Zafra, 2020).

1.1.3.1. Clasificación de conservantes

De acuerdo con Shinde (2022), los conservantes se clasifican en dos grupos principales: la Clase I, que incluye conservantes naturales como sal, azúcar, vinagre, almíbar, especias, miel y aceites comestibles, y la Clase II, que está compuesta por conservantes de origen químico o sintético, tales como benzoatos, sorbatos, nitritos y nitratos de sodio o potasio, sulfitos, glutamatos y glicéridos. Las normativas alimentarias indican que no se debe utilizar más de un conservante de Clase II en un mismo producto alimentario. El uso de productos que contengan una combinación de estos conservantes implica un posible riesgo de exposición a diversas sustancias químicas (Shinde, 2022). Los conservantes, tanto naturales como sintéticos, se clasifican en tres tipos principales:

Antimicrobianos: Inhiben o eliminan el crecimiento de microorganismos. Ejemplos incluyen nitritos y nitratos (prevención del botulismo) y dióxido de azufre (previene la descomposición en frutas, vino y cerveza), así como benzoatos y sorbatos, utilizados como antifúngicos en productos como mermeladas y quesos.

Antioxidantes: Previenen la oxidación de grasas y aceites, evitando la rancidez. Se dividen en antioxidantes verdaderos (BHT y BHA), agentes reductores (ácido ascórbico) y sinergistas antioxidantes (edetato de sodio).

Antienzimáticos: Bloquean procesos enzimáticos que afectan la calidad de los alimentos, como la maduración. Ácido eritórbito y ácido cítrico inhiben la enzima fenolasa, que provoca el oscurecimiento en frutas y patatas.

1.1.3.2. Conservantes Naturales

Los conservantes naturales o antimicrobianos naturales son aquellos que se extraen a partir de plantas, tejidos animales, hongos, microorganismos o minerales; y no de forma sintética. Pudiendo tener diversos tipos de inhibición, siendo la mayoría de estos efectivos contra una limitada cantidad de patógenos, mientras que otros pueden tener la capacidad de eliminar o inhibir una amplia cantidad de patógenos. En este contexto, la industria alimentaria emplea principalmente antimicrobianos sintéticos; sin embargo, el consumidor busca alimentos procesados mínimamente y libre de conservantes químicos sintéticos (**Torres, 2019**).

1.1.4. Queso fresco

1.1.4.1. Descripción

El queso fresco se encuentra catalogado como un producto lácteo elaborado de forma industrial o artesanal, el cual está asociado a una determinada región o país. Su proceso de elaboración se fundamenta en la coagulación enzimática de la leche, a través de la adición del cuajo o la acidificación natural en base a las bacterias ácido lácticas propias de la leche (**Merchán et al., 2018**).

1.1.4.2. Consumo

El consumo de queso fresco a nivel del país es masivo, llegándose a considerar un producto básico en la alimentación diaria de una familia ecuatoriana, al ser un alimento con buenas propiedades nutricionales como su alto contenido en proteínas grasas y vitaminas (**Espinoza et al., 2020**).

De acuerdo con el **INEC (2012)**, un 84.3% de las familias ecuatorianas ubicadas en zonas urbanas de las principales ciudades del país consumen de forma cotidiana el queso fresco, lo que representa alrededor de más de un millón de familias. Siendo uno de los principales factores de compra su precio y sabor.

1.1.4.3. Susceptibilidad a la contaminación

Debido a su elevado contenido en proteínas y nutrientes, el queso fresco supone un estrato ideal para la proliferación de una gran variedad de microorganismos, ya sean estos propios de la materia prima (leche), contaminación en el proceso de elaboración o su manipulación inadecuada. En cuanto a los microorganismos que pueden encontrarse en el queso fresco se encuentran principalmente: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp*, entre otros (Holguín, 2019). Asimismo, Solorzano, (2021), menciona que la mayoría de los quesos frescos en el país, se preparan con leche cruda de vaca, los cuales tienen la posibilidad de transmitir enfermedades asociadas a patógenos alimentarios debido a la contaminación por las condiciones inadecuadas en las que se expende el producto, mala higiene del personal, utensilios, temperaturas inadecuadas de almacenamiento, entre otras

1.1.5. *Escherichia coli*

Taxonómicamente, las bacterias de la especie *Escherichia coli* se agrupan en la familia *Enterobacteriaceae*. Son bacilos de forma corta, gramnegativos, quimioheterótrofos, catalasa positiva, oxidasa negativa y anaerobios facultativos. Estas bacterias generan ácido y gas a partir de diversos azúcares como glucosa, lactosa, fructosa, galactosa, maltosa, arabinosa, xilosa, ramnosa y manitol. Aunque la mayoría de las cepas fermentan lactosa, algunas lo hacen de manera más lenta. Sin embargo, no fermentan compuestos como dextrina, almidón, glucógeno o inositol (Dos Santos, 2007).

La mayoría de las cepas de *E. coli* forman parte de la microbiota normal del tracto intestinal de los seres humanos y de animales de sangre caliente, siendo comúnmente excretadas en las heces. Por esta razón, su presencia en los alimentos indica contaminación fecal y representa un riesgo potencial de patógenos entéricos (Álvarez, 2011).

1.1.6. *Staphylococcus aureus*

Pertenece al género *Staphylococcus*, que está compuesto por bacterias cocáceas Gram positivas, cuyo tamaño varía entre 0.5 y 1.5 μm , y se disponen en diversas configuraciones, tales como células aisladas, pares, tétradas, cadenas cortas o en racimos semejantes a uvas. Son anaerobias facultativas y la mayoría de ellas produce catalasa, una enzima que descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, lo

cual permite distinguirlas de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus*, que son catalasa negativos. El género *Staphylococcus* contiene 32 especies, de las cuales 16 de ellas se localizan en los humanos, algunas forman parte de la microbiota de piel y mucosas en humanos, y otras se encuentran sólo entre la flora de otros mamíferos y aves. Algunas de estas especies son patógenas cuando existe predisposición e inmunosupresión en el huésped o en presencia de cuerpos extraños **Kuroda et al, 2001).**

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

Evaluar las propiedades antimicrobianas del hongo cola de pavo (*Trametes versicolor* (L.) Lloyd) y su aplicación como conservante en queso fresco.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Obtener un extracto del hongo cola de pavo (*Trametes versicolor* (L.) Lloyd).
- Determinar la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida del extracto contra patógenos alimentarios: *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.
- Analizar la vida útil de un queso fresco que incorpore el extracto como conservante mediante condiciones aceleradas.

2. CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA

A continuación, se describen los materiales y métodos necesarios para el desarrollo de cada uno de los objetivos planteados en el estudio.

2.1. Materiales

Tabla 2.

Recursos materiales

Material	Cantidad
Hongo cola de pavo seco	10 g
Medio de cultivo MacConkey	100 g
Medio de cultivo manitol salado	100g
Medio de cultivo Chromocult	100 g
Agua de peptona	500 ml
Papel filtro	1 m
Papel aluminio	1 m
Asa bacteriológica	1
Tubos Eppendorf	10
Placas de micro titulación	2
Cajas Petri	50
Micropipeta	1 u
Mechero bunsen	1 u
Leche	5L
Sal	20 g
Reactivos	
Dimetilsulfóxido (DMSO)	100 ml
Solución de resazurina	50 ml
Cuajo	0.5 g
Metanol	150 ml
Equipos	
Roto evaporador	1 u
Termómetro	1 u
Vórtex	1 u
Incubadora	1 u
Molino	1 u

2.2. Métodos

2.2.1. Obtención de un extracto del hongo cola de pavo (*Trametes versicolor* (L.) Lloyd).

Para la obtención del extracto del hongo, se siguió la metodología descrita por **Matijašević et al. (2016)**. Se pesaron 10 g de una muestra seca del hongo y se pulverizó. El polvo obtenido se disolvió en 150 ml de metanol y se almacenó para su maceración durante dos semanas a temperatura ambiente y bajo condiciones de oscuridad. El extracto obtenido fue sometido a un proceso de evaporación para remover el metanol mediante un evaporador rotatorio a 40 °C, y se filtró con ayuda de papel filtro. Posteriormente, se almacenó en envases herméticos a 4 °C hasta su uso.

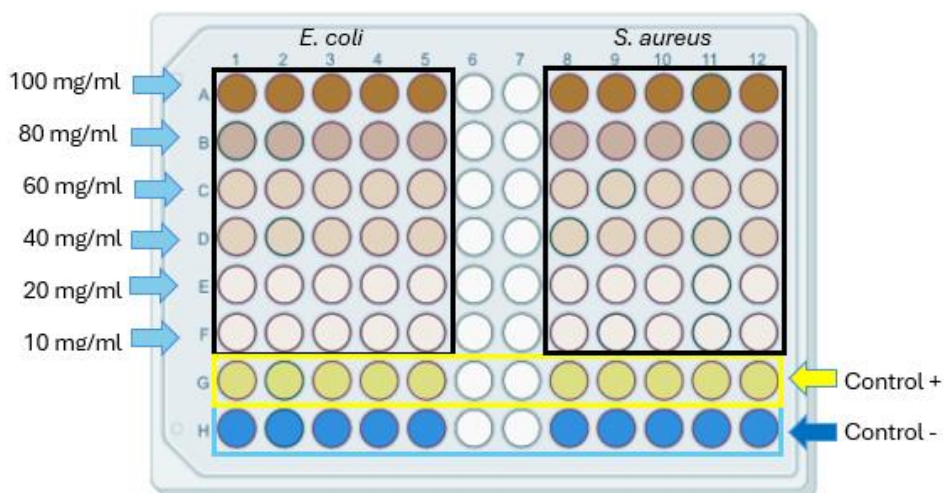
2.2.2. Determinación de la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida del extracto contra patógenos alimentarios: *Escherichia coli*, y *Staphylococcus aureus*

2.2.2.1. Diluciones de los extractos

Para la preparación de las diluciones del extracto, se adoptó el método descrito por **Mariño (2023)**, utilizando tubos Eppendorf esterilizados previamente. El diluyente empleado fue dimetilsulfóxido (DMSO) al 5%, y la mezcla se homogeneizó en un vórtex a 30 rpm durante 5 minutos. Las concentraciones iniciales de los extractos fueron de 100 µg/mL, 80 µg/mL, 60 µg/mL, 40 µg/mL, 20 µg/mL y 10 µg/mL como se ilustra en la **Figura 2**. Posteriormente, se realizaron dos secuencias adicionales de dilución, según los resultados obtenidos, con el objetivo de determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

Figura 2.

Preparación de placa para prueba de microdilución



Nota: Modelo de placa de 96 pocillos para microtitulación realizada en el software Biorender.

2.2.2.2. Activación de las cepas

Las cepas bacterianas de *Escherichia coli* ATCC 11775 y *Staphylococcus aureus* ATCC 259230 fueron activadas siguiendo las instrucciones del fabricante. Posteriormente, se realizó la siembra en medio de cultivo PCA (Agar de Recuento Placa), utilizando la técnica de estriación por el método escocés con ayuda de un asa bacteriológica. Las cajas Petri fueron adecuadamente rotuladas y se incubaron a 37 °C durante 24 horas, manteniéndolas invertidas.

2.2.2.3. Preparación del inóculo

Se estandarizó el inóculo hasta alcanzar el 0,5 de la escala de MacFarland (equivalente a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/ml).

2.2.2.4. Concentración mínima inhibitoria (CMI)

Para este proceso, se utilizaron placas de microtitulación de 96 pocillos dispuestas en una matriz de 8x12. En cada pocillo se depositaron 100 µL de las diluciones previamente preparadas junto con 100

μL del inóculo estandarizado. Como control positivo se utilizó gentamicina y como control negativo DMSO al 5%. Las placas fueron cubiertas con sus respectivas tapas y se incubaron a 37 °C durante 24 horas. Este procedimiento se realizó por triplicado para el extracto y cada una de las cepas bacterianas.

Posteriormente, se añadió a cada pocillo 20 μL de una solución de resazurina al 0,02 % y se reincubó por 2 horas. Tras este periodo, se observó el cambio de coloración en cada pocillo, indicando la presencia o ausencia de crecimiento bacteriano. Dependiendo de los resultados obtenidos en la prueba colorimétrica de resazurina, se llevaron a cabo diluciones adicionales en escalas menores de concentración y se repitió el proceso descrito anteriormente. Esta fase se realizó en dos ocasiones y, en la última serie de diluciones menores, se identificó el pocillo que no presentó crecimiento bacteriano, determinándose así la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

2.2.2.5. Concentración mínima bactericida (CMB)

En esta etapa, se prepararon cajas Petri con medio manitol salado y chromocult debidamente rotuladas. A continuación, se homogeneizó el contenido de los pocillos que no presentaron turbidez utilizando una micropipeta. Se tomó el inóculo homogeneizado de cada pocillo y se realizó una siembra por extensión en las placas preparadas utilizando un asa de Digralsky. Las placas se incubaron a 37 °C y se leyeron a las 24, 48 y 72 horas. Finalmente, se identificó la ausencia de colonias bacterianas en las placas para determinar la Concentración Mínima Bactericida (CMB).

2.2.2. Análisis de la vida útil de queso fresco que incorpore el extracto como conservante mediante condiciones aceleradas.

2.2.3.1. Desarrollo de un queso fresco incorporando el extracto

El desarrollo de un queso fresco que incorporó el extracto se llevó a cabo mediante la metodología mencionada por **Sánchez (2015)**, comenzando con la recepción de la materia prima (5 L de leche cruda). Posteriormente, se filtró la leche para eliminar residuos y se sometió a pasteurización a 72-75 °C durante 15 segundos para eliminar cualquier patógeno. La leche se dejó enfriar hasta alcanzar una temperatura de 38 °C, momento en el cual se añadió el cuajo, siguiendo las instrucciones de la casa comercial, y se mantuvo a una temperatura entre 28-38 °C durante 28 a 45 minutos.

Una vez finalizada la etapa de coagulación, se cortó la cuajada y se procedió al desuerado. Tras concluir esta etapa, se distribuyó la cuajada en los moldes, incorporando la sal y el extracto en la masa del queso. Finalmente, se prensó el queso hasta eliminar los residuos de suero y se almacenó en refrigeración hasta su uso.

2.2.3.2. Determinación del tiempo de vida útil

Para determinar el tiempo de vida útil del queso fresco que incorporó el extracto, se llevó a cabo una cuantificación Enterobacterias basada en la metodología establecida por la **AOAC 997.02 (2017)**, en condiciones de refrigeración (4°C). Se tomó una muestra de 10g de cada queso, a la cual se añadieron 90 ml de agua peptonada, y se homogenizó. Posteriormente, se realizó una dilución 10^{-1} y se inoculó 0.1 ml de la muestra mediante extensión en cajas Petri. Las placas se incubaron con la superficie del agar hacia arriba a temperaturas de 37 °C. Finalmente, se realizaron conteos a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas.

2.2.3.3. Predicción del tiempo de vida útil

En base a la metodología descrita por **Tavalera y Cartagena (2018)**, se ajustó la ecuación de Arrhenius para predecir el tiempo de vida útil del queso fresco a una sola temperatura. Para ello, se realizó una regresión lineal de los valores de UFC/g de los microorganismos en relación con el tiempo de almacenamiento. Se calculó el logaritmo natural de las UFC/g cuantificadas en cada muestra para determinar la pendiente que correspondiera a la velocidad de reacción.

Posteriormente, con estos datos, se obtuvo una ecuación basada en los valores obtenidos, y se predijo el tiempo de vida útil mediante la ecuación de Arrhenius para cada una de las temperaturas empleadas.

$$k = A * e^{-\left(\frac{E_a}{R*T}\right)}$$

(Ec.1)

Donde

k: constante cinética

A: frecuencia o factor preexponencial

Ea: energía de activación (J/mol)

R: constante universal de los gases (8.3143 J/mol*K)

T: temperatura

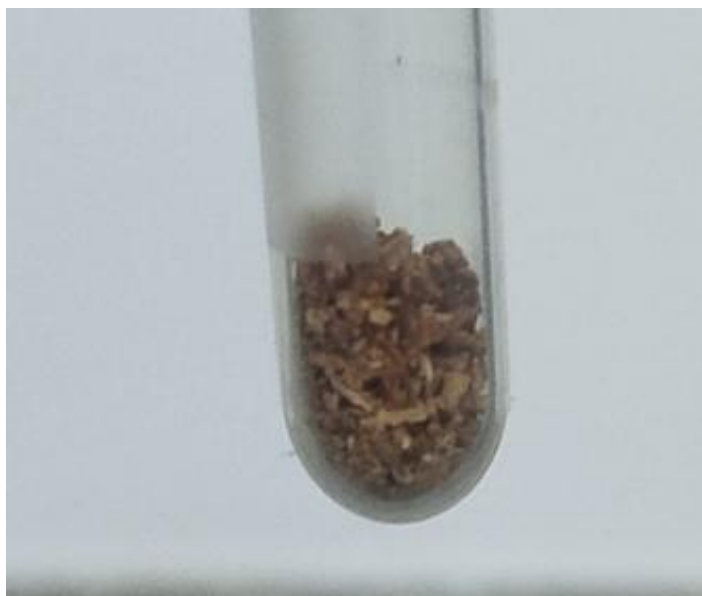
3. CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1.1. Extracto obtenido del hongo cola de pavo (*Trametes versicolor* (L.) Lloyd)

En la **Figura 2**, se observa el extracto metabólico obtenido a partir del hongo cola de pavo (*Trametes versicolor* (L.) Lloyd), a través de la metodología descrita anteriormente.

Figura 3.

*Extracto del hongo cola de pavo (*Trametes versicolor* (L.) Lloyd)*



Nota: El extracto seco es de apariencia granulosa y de color marrón oscuro.

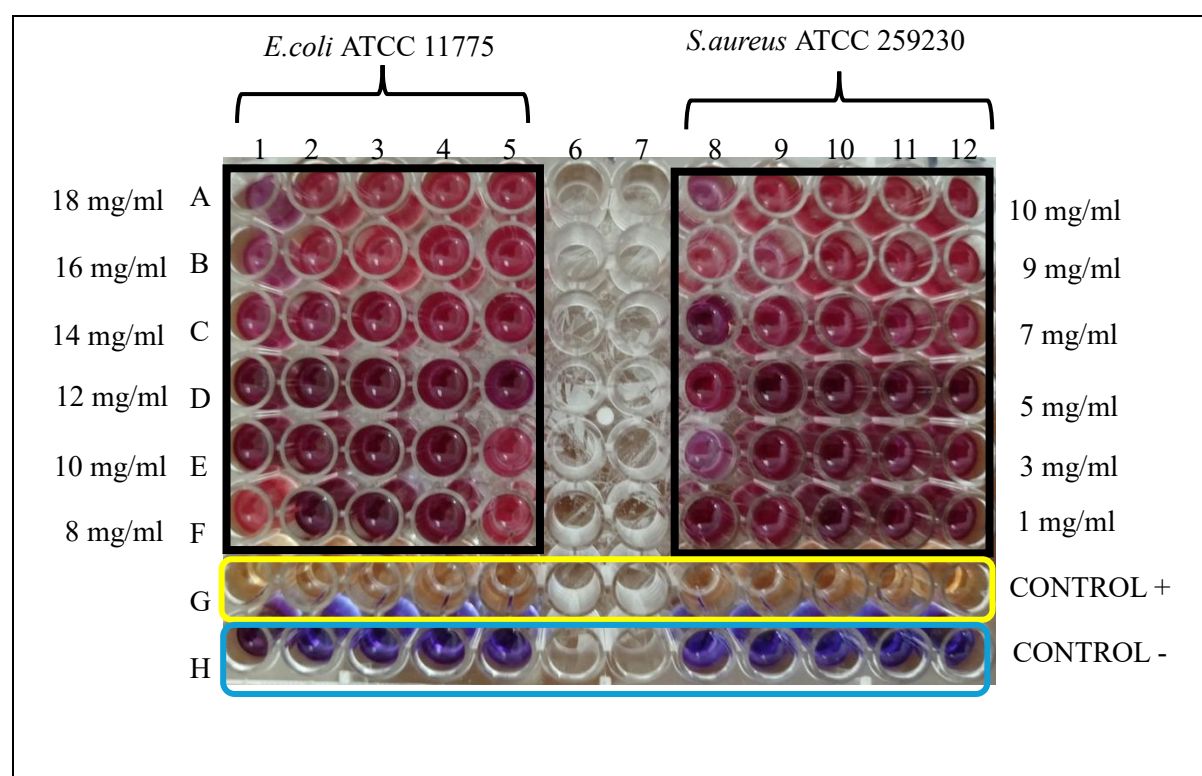
El extracto exhibe una pigmentación marrón, lo que sugiere la presencia de metabolitos secundarios como compuestos fenólicos y melaninas, siendo estas últimas las principales responsables de dicha coloración (Álvarez et al, 2021). Estos metabolitos se generan a partir de la oxidación de los fenoles presentes en la muestra. Este proceso oxidativo coincide con lo reportado por Voda et al. (2003), quienes identificaron a *Trametes versicolor* como un destacado productor de lacasas fúngicas, enzimas pertenecientes al grupo de las oxidasas, reconocidas por su notable capacidad para oxidar compuestos fenólicos. Asimismo, las melaninas abarcan un amplio conjunto de pigmentos poliméricos de apariencia oscura que están presentes en diversas especies de hongos.

3.1.2. Concentración mínima inhibitoria (CMI)

En la **Figura 3** presenta los resultados del ensayo de CMI en microdilución en placa, correspondiente a la tercera serie de diluciones del extracto del hongo *T. versicolor* frente a *Escherichia coli* ATCC 11775 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Figura 4.

Microdilución en placa de 96 pocillos para la prueba de concentración mínima inhibitoria en Escherichia coli ATCC 11775 y Staphylococcus aureus ATCC 25923



Nota: La sección encerrada en un recuadro negro corresponde al extracto con el inóculo en cada una de sus respectivas diluciones. Las secciones encerradas de color amarillo y color celeste corresponden al control positivo (gentamicina) y control negativo (DMSO 5%) respectivamente. Los pocillos de color violeta oscuro presentan actividad microbiana y los pocillos de tonalidad rosácea indican inhibición de la actividad microbiana. Los pocillos de color dorado indican ausencia de actividad antimicrobiana y los de color morado su presencia, correspondientes a los controles +/-.

En la **Tabla 3** se observan los valores obtenidos del ensayo de CMI en microdilución en placa de 96 pocillos, correspondiente a la tercera serie de diluciones del extracto del hongo *T. versicolor* frente a *Escherichia coli* ATCC 11775 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Tabla 3.

Concentración mínima inhibitoria del extracto del hongo cola de pavo (*Trametes versicolor* (L.) Lloyd) frente a *Escherichia coli* ATCC 11775 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Microorganismo	Valor de CMI (mg/mL)
<i>E. coli</i>	14
<i>S. aureus</i>	7

Nota: Los valores obtenidos a partir de microdilución en placa de 96 pocillos por quintuplicado

Los resultados obtenidos son similares a los reportados por **Matijašević et al. (2016)**, quienes determinaron valores mayores de CMI para un extracto metanólico de *T. versicolor* en *E. coli* ATCC 355150 (20 mg/ml) y *S. aureus* ATCC 25923 (2.5 mg/ml). Esta diferencia en la sensibilidad puede explicarse por la estructura de la pared celular. En las bacterias Gram-negativas, como *E. coli*, la pared celular de peptidoglucano está rodeada por una membrana externa que contiene lipopolisacáridos, lo que restringe la difusión y actúa como una barrera eficaz frente a la penetración de compuestos dañinos. Además, el espacio periplásmico de estas bacterias contiene enzimas hidrolíticas y desintoxicantes capaces de inactivar moléculas extrañas. Por otro lado, las bacterias Gram-positivas, como *S. aureus*, carecen de esta membrana externa adicional, aunque poseen una pared celular más gruesa, hidrófila y porosa, que facilita una mayor permeabilidad. Por lo tanto, estas características estructurales explican la mayor sensibilidad de las bacterias Gram-positivas en contraste con las Gram-negativas analizadas en este estudio (**Cardona et al, 2013; Karaman et al, 2010**).

En este caso, el extracto de *T. versicolor* ha mostrado una notable capacidad para inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, aunque los mecanismos de inhibición pueden variar según la especie bacteriana. La concentración mínima inhibitoria (CMI) representa la dosis más baja de extracto que puede inhibir el crecimiento visible de las bacterias, sin necesariamente erradicarlas. Este efecto inhibitorio es mediado principalmente por compuestos fenólicos presentes en el extracto, que interfieren con la integridad de la membrana celular bacteriana (**Ahmadpour et al, 2022**). Según un estudio publicado por **Michalak et al (2023)**, el extracto acuoso de *T. versicolor* mostró actividad antimicrobiana contra *S. aureus* y *E. coli*, con valores de CMI que indican una inhibición significativa del crecimiento bacteriano sin necesariamente eliminar las células bacterianas. En *S. aureus*, el extracto de *T. versicolor* muestra una actividad inhibidora similar, pero con una respuesta bacteriana menos pronunciada en términos de daño celular directo. En este contexto, la inhibición en lugar de la erradicación es un proceso en el que el extracto detiene las divisiones celulares y el desarrollo bacteriano, pero no elimina completamente las células. Por lo tanto, la inhibición por parte del extracto

de *T. versicolor* en estas bacterias se asocia a un efecto bacteriostático y no un mecanismo bactericida (Pereira et al, 2019).

3.1.3. Concentración mínima bactericida (CMB)

En la **Tabla 4** se observan los valores obtenidos del ensayo de CMB correspondiente a identificación de los pocillos que no presentaron turbidez

Tabla 4.

Concentración mínima bactericida del extracto del hongo cola de pavo (Trametes versicolor (L.) Lloyd) frente Escherichia coli ATCC 11775 y Staphylococcus aureus ATCC 25923

Microorganismo	Valor de CMB (mg/mL)
<i>S. aureus</i>	>7
<i>E. coli</i>	>14

Nota: Para obtener un efecto bactericida se requirieron valores mayores a los de CMI.

El extracto requiere concentraciones más altas para un efecto bactericida completo, lo que explica los valores de CMB superiores respecto a CMI. Estos resultados contrastan con los reportados por **Inci et al. (2022)**, donde los valores de CMB son menores en *E. coli* y mayores en *S. aureus*, debido a que se utilizó una metodología de extracción diferente que favoreció la abundancia de ciertos componentes bioactivos, influyendo así en los valores de CMI. Además, la actividad antimicrobiana observada sugiere que el extracto tiene un efecto bactericida en ambos tipos de bacterias, Gram-positivas y Gram-negativas. Este mecanismo de acción implica el daño al ADN bacteriano, a las paredes celulares y la interrupción de sus actividades enzimáticas, provocado por los metabolitos secundarios presentes en el extracto de *T. versicolor* (**Hleba et al, 2014**).

La actividad antimicrobiana del hongo *T. versicolor* se asocia con una alta concentración de compuestos fenólicos en su composición, principalmente ácidos fenólicos. En el caso de las bacterias Gram-positivas, estas presentan una mayor sensibilidad a estos compuestos en comparación con las Gram-negativas (**Michalak et al., 2023**). Entre los ácidos fenólicos identificados se encuentran el gálico, el protocatecuico y el cafeico, siendo este último el predominante. Se presume que estos ácidos poseen una naturaleza parcialmente lipófila, lo que les permite atravesar la membrana bacteriana mediante

difusión pasiva, incrementando su permeabilidad, reduciendo el pH intracelular e induciendo la desnaturalización de proteínas. Esto se evidencia en el estudio de **Matijašević et al. (2016)**, donde se expuso *S. aureus* a la CMI de 20 mg/ml, observándose células alargadas, malformadas y con fuga de material intracelular. Todo lo anterior sugiere que el mecanismo de acción del extracto de *T. versicolor* afecta la permeabilidad de la membrana citoplasmática, causando daños importantes e irreversibles que causan un efecto bactericida.

3.1.3. Aplicación del extracto en queso fresco

3.1.3.1. Tiempo de vida útil

La **Tabla 5** muestra los valores iniciales del recuento de *E. coli*, *S. aureus* y Enterobacterias en distintas muestras de queso fresco.

Tabla 5.

Recuento inicial de E.coli, S. aureus y Enterobacterias para diferentes muestras de queso fresco

A		B		C	
	UFC/g		UFC/g		UFC/g
<i>E.coli</i>	1 x 10 ⁴	<i>E.coli</i>	0	<i>E.coli</i>	0
<i>S.aureus</i>	2.4 x 10 ⁴	<i>S.aureus</i>	0	<i>S.aureus</i>	0
Enterobacterias	1.9 x 10 ⁴	Enterobacterias	1 x 10 ²	Enterobacterias	1 x 10 ²

Nota: A: Queso fresco elaborado con leche cruda sin pasteurizar; B: Queso fresco elaborado con leche pasteurizada y salmuera; C: Queso fresco elaborado con leche pasteurizada y extracto de *T. versicolor*. El recuento se lo realizó a un tiempo 0.

Los valores de la **Tabla 5** no permitieron aplicar la ecuación de Arrhenius para modelar el crecimiento microbiano en los recuentos de *E. coli* y *S. aureus* en quesos frescos elaborados con leche pasteurizada, ya sea en salmuera o con extracto de *T. versicolor*. Esto se debe a que ambos sistemas presentaron un recuento inicial de 0 UFC/g en el tiempo 0, lo que impide establecer una base para calcular la constante de velocidad de crecimiento microbiano (k) y su dependencia de la temperatura. Según **Palazón et al. (2003)**, el modelo de Arrhenius requiere un crecimiento inicial detectable para ajustar los datos experimentales a una cinética exponencial. Sin recuentos iniciales detectables, no es posible determinar

un patrón de crecimiento ni extrapolar datos mediante una ecuación exponencial. Esto subraya la importancia de contar con condiciones iniciales detectables para la correcta aplicación de modelos predictivos.

La **Tabla 6** recoge el recuento de Enterobacterias en muestras de queso fresco durante 5 días

Tabla 6.

Recuento de Enterobacterias para diferentes muestras de queso fresco durante 5 días

A		B		C	
Tiempo (h)	UFC/g	Tiempo (h)	UFC/g	Tiempo (h)	UFC/g
0	1.9×10^4	0	1×10^2	0	1×10^2
24	MNPC	24	1×10^2	24	1.5×10^2
48	MNPC	48	1.5×10^2	48	2×10^2
72	MNPC	72	3×10^2	72	3×10^2
96	MNPC	96	5×10^2	96	6.5×10^2
120	MNPC	120	7×10^2	120	8×10^2

Nota: A: Queso fresco elaborado con leche cruda sin pasteurizar; B: Queso fresco elaborado con leche pasteurizada y salmuera; C: Queso fresco elaborado con leche pasteurizada y extracto de *T. versicolor*.

El tiempo necesario para que el recuento de Enterobacterias alcance el límite máximo permisible de 1000 UFC/g, establecido en la **NTE INEN 1528 (2012)**, para quesos frescos no madurados, fue de aproximadamente 140.4 horas en el queso fresco con leche pasteurizada y conservado en salmuera (Muestra B), mientras que en el queso fresco con leche pasteurizada y extracto de *Trametes versicolor* (Muestra C) fue de 130.6 horas. Este contraste puede atribuirse a los diferentes mecanismos de acción en cada tratamiento. En el caso de la salmuera, su efecto antimicrobiano se basa principalmente en la reducción de la actividad de agua (a_w) y el efecto osmótico sobre las células microbianas, lo que dificulta su proliferación (**Davidson et al., 2013**).

Por otro lado, el extracto de *T. versicolor* ejerce su acción a través de compuestos bioactivos, como terpenoides y fenoles, que afectan las membranas celulares de las bacterias, provocando daños estructurales y funcionales (**Jing et al., 2022**). El menor tiempo de vida útil evidenciado en la Muestra C podría deberse a la presencia de nutrientes residuales del extracto que favorecen el crecimiento bacteriano una vez que la concentración de compuestos activos disminuye. Esto evidencia

que el mecanismo de acción de la salmuera puede ser más efectivo en la inhibición prolongada de microorganismos en comparación con el extracto de *T. versicolor* en las condiciones estudiadas.

CAPITULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- La extracción de compuestos bioactivos mediante maceración en metanol demostró ser eficaz para aislar metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas, como compuestos fenólicos y polisacáridos. Este proceso permitió obtener un extracto con características físicoquímicas adecuadas para su aplicación como conservante natural, destacando su potencial como alternativa sostenible a los aditivos sintéticos en la industria alimentaria.
- El extracto de *Trametes versicolor* presentó actividad antimicrobiana significativa contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, siendo más efectivo contra este último debido a las diferencias en la estructura celular de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Los valores de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) confirmaron su capacidad para inhibir y eliminar microorganismos patógenos relevantes, lo que respalda su potencial como agente conservante natural.
- La incorporación del extracto de *T. versicolor* en queso fresco prolongó su vida útil al reducir el crecimiento microbiano en condiciones de conservación, cumpliendo con los límites normativos establecidos. Aunque su eficacia fue ligeramente inferior a la del tratamiento con salmuera, el extracto mostró propiedades antimicrobianas efectivas sin alterar las características organolépticas del producto, evidenciando su viabilidad como conservante natural en productos lácteos perecederos.

4.2. Recomendaciones

- Es necesario evaluar la eficacia del extracto del hongo cola de pavo en una variedad de productos alimenticios para confirmar su versatilidad y determinar su comportamiento en distintas condiciones de almacenamiento y procesamiento.

- La implementación de técnicas avanzadas, como la extracción asistida por ultrasonido o microondas, puede mejorar el rendimiento del extracto, reducir costos y facilitar su escalabilidad en aplicaciones industriales.
- La evaluación de posibles efectos en las características organolépticas de los alimentos tratados, como sabor, textura y aroma, resulta fundamental para garantizar la aceptación del producto por parte del consumidor

MATERIALES DE REFERENCIA

- Ahmadpour Torki, M., Ranjbar, M., Govahi, M., & Tafrihi, M. (2022). Effect of aqueous extract of turkey tail (*Trametes versicolor*) on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Fusarium thapsinum*. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences*, 24(3), 93-98.
- Alvarez, E. (2011). *Efectos del Lactobacillus casei ATCC 393 TM sobre el Escherichia coli durante la vida comercial del queso fresco* (Doctoral dissertation, Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Callao]
- Álvarez, F., Gama, O., Valadez, J., Navarro, J., Hernández, I., & Escobosa, A. (2021). Biosíntesis y potencial aplicación de pigmentos fúngicos. *JÓVENES EN LA CIENCIA*, 10.
- Ayala, N. (2024). *Conservantes artificiales en alimentos procesados y su incidencia en la salud de las personas*. Universidad Técnica de Babahoyo.
- Bains, A., Chawla, P., Kaur, S., Najda, A., Fogarasi, M., & Fogarasi, S. (2021). Bioactives from Mushroom: Health Attributes and Food Industry Applications. *Materials*, 14(24), 7640. <https://doi.org/10.3390/ma14247640>
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.
- Camp, A., & Bal, T. (2022). *The Turkey Tail Mushroom and its Many Look-alikes*. <https://doi.org/10.37099/mtu.dc.oabooks/8>
- Cantón, R., García, J., Gómez, L., Martínez, L., Rodríguez, C., Vila, J., & García, J. (2000). *Métodos especiales para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos*. SIEMC.
- Cardona, F., Lacueva, C., Tulipani, S., Tinahones, F., & Queipo, M. (2013). Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. *J. Nutr. Biochem.* 24, 1415–1422. doi: 10.1016/j.jnutbio.2013.05.001
- Cao, R. (2023). *Producción de aditivos alimentarios por hongos, con especial referencia a Aspergillus niger*. Universidad de León.
- Chu, K. K., Ho, S. S., & Chow, A. H. (2002). *Coriolus versicolor*: a medicinal mushroom with promising immunotherapeutic values. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 42(9), 976-984.
- Davidson, P., Sofos, J., & Branen, A. (2005). *Antimicrobials in food*. CRC press.
- De Silva, D., Rapior, S., Hyde, K., & Bahkali, A. (2012). *Medicinal mushrooms in prevention and control of diabetes mellitus*. 56(1), 1–29.

- Dos Santos, E. (2007). *Estudio del comprotamiento cinético de microorganismos de interés en seguridad alimentaria con modelos matemáticos* (Doctoral dissertation, Universitat Autònoma de Barcelona).
- Espinoza, F., Filian, A., Filian, C., & Cuenca, G. (2020). Análisis microbiológico de quesos frescos comercializados en la ciudad de Babahoyo. *JOURNAL OF SCIENCE AND RESEARCH*.
- Gyawali, R., & Ibrahim, S. (2014). Natural products as antimicrobial agents. *Food Control*, 46, 412–429.
- Hleba, L., Vuković, N., Petrová, J., & Kačániová, M. (2014). Antimicrobial activity of crude methanolic extracts from *Ganoderma lucidum* and *Trametes versicolor*. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 47(2), 89-89.
- Holguín, J. (2019). *Calidad bacteriológica de queso fresco artesanal comercializado en mercados del distrito de Trujillo-La Libertad, Perú-2019*. Universidad Nacional de Trujillo.
- Idexx. (2023). *Guía microbiológica para interpretar la concentración mínima inhibitoria (CMI)*. <https://www.idexx.es/files/mic-gui%CC%81a-microbiolo%CC%81gica-es.pdf>
- INEC. (2012). *Ficha Técnica de Alimentos - Queso Fresco*. https://aplicaciones2.ecuadorencifras.gob.ec/SIN/co_alimentos.php?id=22251.00.08#:~:text=El%20mercado%20ecuatoriano%20de%20quesos,de%20un%20mill%C3%B3n%20de%20hogares
- İnci, Ş., Akyüz, M., & Kırbağ, S. (2022). Antioxidant and Antimicrobial Effects of *Trametes versicolor* (L.) Lloyd Extracts in Different Solvents. *Turkish Journal of Science and Technology*, 17(2), 261-265.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización (2012). Norma Técnica Ecuatoriana. *NTE INEN1528:2012. Norma general para quesos frescos no madurados. Requisitos*. 1ed; 1-20. Quito-Pichincha
- Janjušević, L., Karaman, M., Šibul, F., Tommonaro, G., Iodice, C., Jakovljević, D., & Pejin, B. (2017). The lignicolous fungus *Trametes versicolor* (L.) Lloyd (1920): a promising natural source of antiradical and AChE inhibitory agents. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32(1), 355–362. <https://doi.org/10.1080/14756366.2016.12527594>
- Jing, Y., Zhang, S., Li, M., Ma, Y., Zheng, Y., Zhang, D., & Wu, L. (2022). Research progress on the extraction, structure, and bioactivities of polysaccharides from *coriolus versicolor*. *Foods*, 11(14), 2126.

- Karaman, M., Jovin, E., Malbaša, R., Matavuly, M., and Popović, M. (2010). Medicinal and edible lignicolous fungi as natural sources of antioxidative and antibacterial agents. *Phytother. Res.* 24, 1473–1481. doi: 10.1002/ptr.2969
- Kuroda, M., Ohta, T., Uchiyama, I., Baba, T., Yuzawa, H., Kobayashi, I., & Hiramatsu, K. (2001). Whole genome sequencing of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Lancet*, 357(9264), 1225-1240.
- Mariño, K. (2023). *Determinación del efecto antioxidante y antimicrobiano de extractos de diferentes tipos de ortiga (Urtica dioica, Urtica urens, Urtica leptophylla, Urtica baccifera) frente a cepas de Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Listeria monocytogenes y Bacillus cereus* [Universidad Técnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/37948>
- Matijašević, D., Pantić, M., Rašković, B., Pavlović, V., Duvnjak, D., Sknepnek, A., & Nikšić, M. (2016). The Antibacterial Activity of *Coriolus versicolor* Methanol Extract and Its Effect on Ultrastructural Changes of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella Enteritidis*. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01226>
- Merchán, N., Pineda, L., Cárdenas, A., González, N., Otárola, M., & Sánchez, Y. (2018). *Microorganismos comúnmente reportados como causantes de enfermedades transmitidas por el queso fresco en las Américas, 2007-2016*. Universidad de Boyacá.
- Michalak, K., Winiarczyk, S., Adaszek, Ł., Kosikowska, U., Andrzejczuk, S., Garbacz, K., ... & Pietras-Ożga, D. (2023). Antioxidant and antimicrobial properties of an extract rich in proteins obtained from. *Journal of Veterinary Research*, 67(2), 209-218.
- Mustafin, K., Bisko, N., Blieva, R., Al-Maali, G., Krupodorova, T., Narmuratova, Z., Saduyeva, Z., & Zhakipbekova, A. (2022). Antioxidant and antimicrobial potential of *Ganoderma lucidum* and *Trametes versicolor*. *Turkish Journal of Biochemistry*, 47(4), 483–489. <https://doi.org/10.1515/tjb-2021-0141>
- NBNatlas (2020). *Trametes Versicolor (L.) Lloyd: Turkeytail*. Obtenido de: <https://species.nbnatlas.org/species/nhmsys0001499939>
- Palazón, M. A., Ross, G., Vidal, M. L., Abellán, P., & Falcón, F. R. (2003). Revisión: cinética de los procesos de deterioro de los alimentos. *Alimentación, equipos y tecnología*, 22(183), 61-68.
- Sánchez, A. (2015). *Elaboración de un manual de operaciones para el proceso de fabricación de queso fresco de calidad en la empresa Aychapicho Agro' s SA* [Escuela Politécnica Nacional]. <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/10471/1/CD-6193.pdf>

- Shinde, S. (2022). A Review On: Preservatives Used in Pharmaceuticals and Impacts on Health. *IRE J*, 131-40.
- Solorzano, V. (2021). *Evaluación de las principales fincas productoras de queso fresco artesanal manaba sobre la preferencia sensorial, calidad fisicoquímica y microbiológica*. <https://repositorio.esпам.edu.ec/handle/42000/1586>
- Tavalera, M., & Cartagena, R. (2018). *Evaluación sensorial y estudio de la vida útil de té aromático elaborado a base de llantén (Plantago major L.), canela (Cinnamomum verum) y limón sutil (Citrus aurantifolia swingle)*. <https://repositorio.upt.edu.pe/handle/20.500.12969/1068>
- Tenover, F., Hindler, J., & Rosner, E. (2005). *Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana*.
- Torres, D. (2019). *Efecto de la concentración del aceite esencial de tomillo (thymus vulgaris) sobre la vida útil del queso fresco artesana*. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “M.F.L.”
- Voda, K., Boh, B., Vrtačnik, M., & Pohleven, F. (2003). Effect of the antifungal activity of oxygenated aromatic essential oil compounds on the white-rot *Trametes versicolor* and the brown-rot *Coniophora puteana*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 51(1), 51-59.
- Zafra, E. (2020). ¿Sabemos lo que comemos?: Percepciones sobre el riesgo alimentario en Cataluña, España. *Salud colectiva*, 505-518.

ANEXOS

ANEXO A. *Obtención del extracto*



ANEXO A 1. *Pulverizado del hongo seco cola de pavo (Trametes versicolor (L.))*



ANEXO A 2. *Maceración del hongo con metanol*

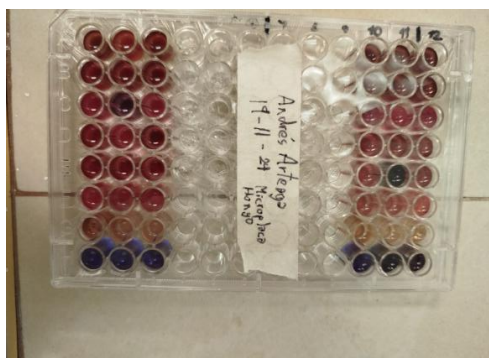


ANEXO A 3. *Filtrado de la materia vegetal*

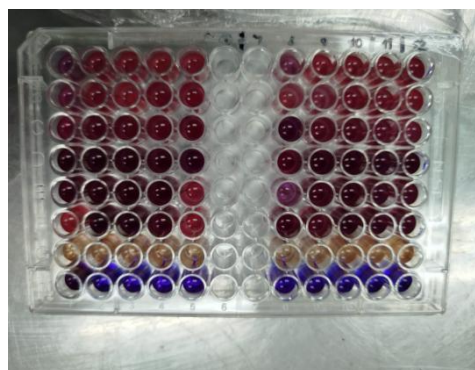


ANEXO A 4. *Eliminación del metanol mediante el uso del rotavapor*

ANEXO B. Actividad antimicrobiana



ANEXO B 1. Primera dilución del extracto del hongo frente a *E.coli* ATCC 11775 y *S. aureus* ATCC 25923

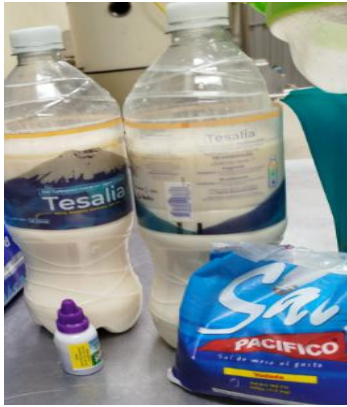


ANEXO B 2. Segunda dilución del extracto del hongo frente a *E.coli* ATCC 11775 y *S. aureus* ATCC 25923



ANEXO B 3. Tercera dilución del extracto del hongo frente a *E.coli* ATCC 11775 y *S. aureus* ATCC 25923

ANEXO C. Proceso de elaboración del queso fresco incorporando el extracto del hongo



ANEXO C 1. *Recepción de materia prima*



ANEXO C 2. *Filtrado de leche fresca*



ANEXO C 3. *Pasteurización*



ANEXO C 4. *Adición del cuajo*



ANEXO C 5. *Incorporación del extracto*



ANEXO C 6. *Corte de la cuajada*



ANEXO C 7. *Desuerado*



ANEXO C 8. *Distribución de la cuajada en moldes*



ANEXO C 9. *Prensado*



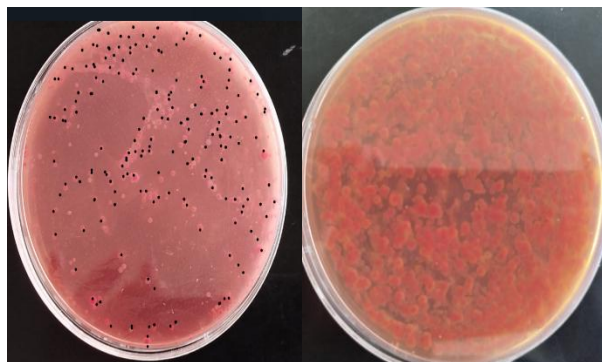
ANEXO C 10. *Queso elaborado con leche fresca*



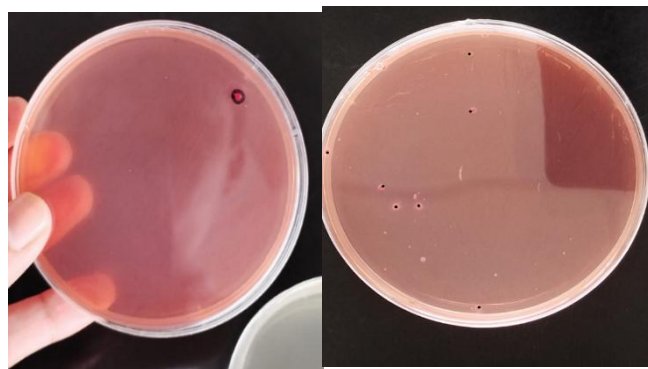
ANEXO C 11. *Queso elaborado con leche fresca pasteurizada*



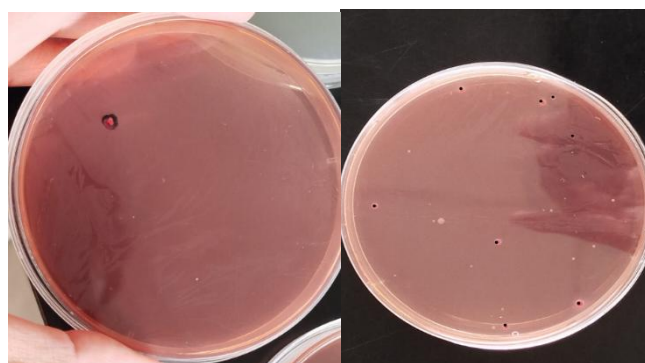
ANEXO C 12. *Queso elaborado con leche fresca pasteurizada y extracto*



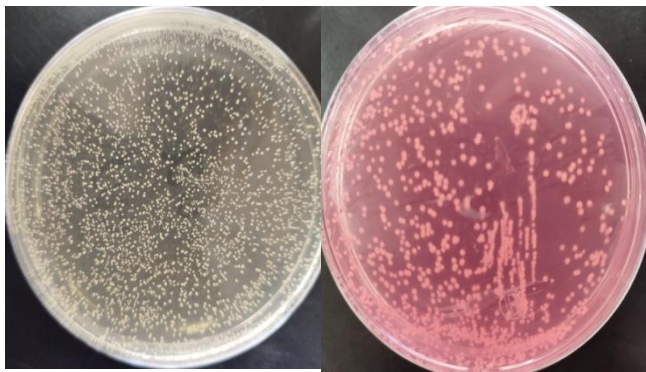
ANEXO C 13. *Recuento inicial y final de Enterobacterias de queso fresco elaborado con leche fresca*



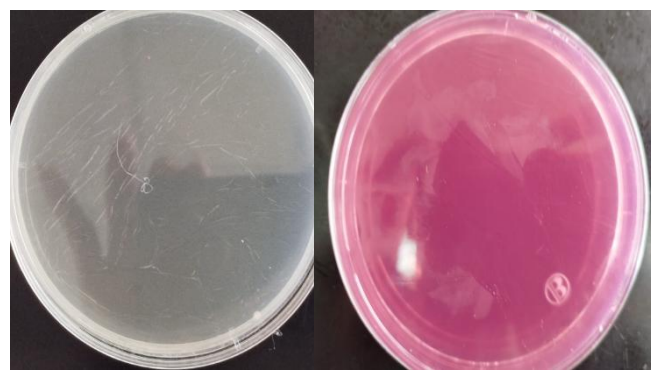
ANEXO C 14. *Recuento inicial y final de Enterobacterias de queso fresco elaborado con leche fresca pasteurizada y salmuera*



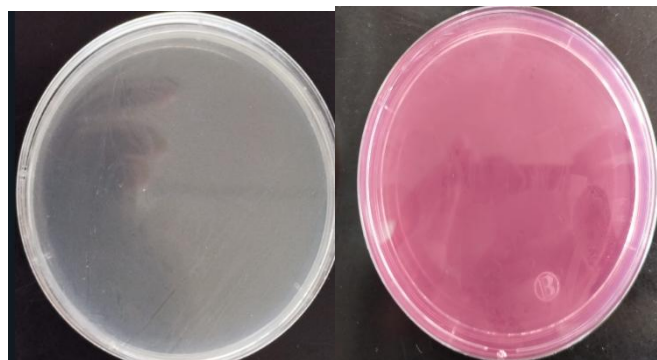
ANEXO C 15. *Recuento inicial y final de Enterobacterias de queso fresco elaborado con leche fresca pasteurizada y extracto*



ANEXO C 16. *Recuento inicial de E.coli y S. aureus de queso fresco elaborado con leche fresca*



ANEXO C 17. *Recuento inicial de E.coli y S. aureus de queso fresco elaborado con leche fresca pasteurizada y salmuera*



ANEXO C 18. *Recuento inicial de E.coli y S. aureus de queso fresco elaborado con leche fresca pasteurizada y extracto*