

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

**IDENTIFICACIÓN DE HONGOS EN QUESOS ARTESANALES ELABORADOS EN
DIFERENTES REGIONES DE OLANCHO, HONDURAS**

POR:

EVER CALEB RODRIGUEZ CRUZ

TESIS



CATACAMAS

OLANCHO

NOVIEMBRE, 2025

IDENTIFICACIÓN DE HONGOS EN QUESOS ARTESANALES ELABORADOS EN
DIFERENTES REGIONES DE OLANCHO, HONDURAS

POR:

EVER CALEB RODRIGUEZ CRUZ

DÉBORA KAROLINA MEJÍAMENDEZ, M. Sc.

Asesor Principal

TESIS

PRESENTADO A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO
REQUISITO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO EN TECNOLOGÍA ALIMENTARIA

CATACAMAS

OLANCHO

NOVIEMBRE, 2025

ACTA DE SUSTENTACIÓN

DEDICATORIA

A **Dios** por darme la sabiduría para llegar hasta este momento tan importante en mi formación profesional.

A mis padres **Elia Karina Cruz** y **Ever Alberto Rodríguez**, mis pilares fundamentales, quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar al final de esta etapa de mi vida. Gracias a su dedicación y a la formación basada en buenos hábitos, principios y valores, he tenido la y la fortaleza para convertirme en profesional. Este logro también es de ustedes.

A mi hermano **Enoc Rodríguez**, cuyo apoyo y compañía ha sido un impulso constante en este camino.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco profundamente a Dios, por ser mi guía todo el tiempo, por darme fortaleza, sabiduría y perseverancia para culminar con éxito esta etapa tan importante de mi vida.

A mi familia, por su amor incondicional, apoyo y comprensión en todo momento. A mi madre Elia Karina Cruz, por su ejemplo de esfuerzo y dedicación; a mi padre Ever Alberto Rodríguez, por su constante respaldo y confianza en mí, su compañía y aliento durante este proceso.

Expreso mi agradecimiento a mis asesores de la Universidad Nacional de Agricultura, M. Sc. Débora Mejía, M.Sc. Juan Amílcar Colindres y M.Sc. Luis Castillo, por su orientación, compromiso y valiosos aportes en el desarrollo de esta investigación.

De igual manera, agradezco a los profesores del Laboratorio de Micología y Micotoxinas del Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Universidade Federal de Lavras (UFLA), Ph.D. Luis Roberto Batista, Ph.D. Kelly Pereira y Ph.D. Miriam Santos, por su acompañamiento, paciencia y apoyo técnico. Agradezco también a quienes integran el núcleo “Micoalis” del laboratorio, por su colaboración y amistad durante mi estancia en Brasil.

Finalmente, extendiendo mi gratitud a las instituciones que hicieron posible esta experiencia académica, a la Universidad Nacional de Agricultura (UNAG) y a la Universidade Federal de Lavras (UFLA), por brindarme los medios y el espacio para desarrollar mi formación profesional y personal.

CONTENIDO

ACTA DE SUSTENTACIÓN.....	I
DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTO	III
LISTA DE ANEXOS	VI
LISTA DE ILUSTRACIONES.....	VII
LISTA DE TABLAS	VIII
RESUMEN	IX
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS.....	3
2.1. Objetivo general	3
2.2. Objetivos específicos	3
III. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
3.1. Industria láctea en Honduras	5
3.2. Queso fresco	5
3.3. Queso semiseco	6
3.4. Quesillo	7
3.5. Hongos Filamentosos en quesos.....	7
3.6. Efectos causados por hongos en quesos artesanales	8
3.7. Factores que afectan la micobiota de los quesos	9
3.8. Importancia de la caracterización microbiológica de quesos artesanales	10
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	12

4.1.	Descripción del área de análisis microbiológico	12
4.2.	Materiales y Equipos.....	13
4.3.	Muestreo.....	13
4.4.	Aislamiento de hongos filamentosos	14
4.5.	Purificación de hongos filamentosos	15
4.6.	Identificación morfológica de hongos filamentosos.....	16
4.7.	Preservación de los hongos filamentosos.....	17
4.8.	Análisis estadístico	17
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	18
5.1.	Población fúngica en las muestras	18
5.2.	Hongos identificados en las muestras de queso	20
VI.	CONCLUSIONES.....	23
VII.	RECOMENDACIONES	25
VIII.	BIBLIOGRAFÍAS.....	27
ANEXOS		32

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1	Fórmulas para preparación de medio.....	32
Anexo 2	Etapas del análisis microbiológico	34
Anexo 3	Tablas de identificación de hongos aislados	37
Anexo 4	Ilustraciones macroscópicas de los hongos aislados	38
Anexo 5	Ilustraciones de las características microscópicas de los hongos aislados	40

LISTA DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1	Preparación de dilución	34
Ilustración 2	Muestra de queso diluida.....	34
Ilustración 3	Siembra por extensión en superficie	35
Ilustración 4	Colonias fúngicas en medio DRBC	35
Ilustración 5	Colonias fúngicas en medio DRBC	35
Ilustración 6	Recuento de colonias en medio YEPG	36
Ilustración 7	Aislamiento de hongos filamentosos	36
Ilustración 8	Cladospodium.....	38
Ilustración 9	Aspergillus Clavatus	38
Ilustración 10	Trichothecium Roseum	39
Ilustración 11	Penicillium.....	39
Ilustración 12	Cladospodium.....	40
Ilustración 13	Penicillium.....	40
Ilustración 14	Penicillium.....	40
Ilustración 15	Trichothecium Roseum	41
Ilustración 16	Aspergillus.....	41
Ilustración 17	Aspergillus.....	41

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Materiales y equipos.....	13
Tabla 2 Población de hongos de las muestras de queso ($\log(x+1)$ UFC·g ⁻¹).....	18
Tabla 3 Aislamientos fúngicos de las muestras de queso	19
Tabla 4 Aislamientos de hongos obtenidos de quesos artesanales de diferentes regiones del departamento de Olancho, Honduras.	37

Rodriguez Cruz, E.C. 2025 Identificación de hongos en quesos artesanales elaborados en diferentes regiones de Olancho, Honduras. Tesis. Ingeniería en Tecnología Alimentaria, Catacamas, Olancho, Honduras, Universidad Nacional de Agricultura. Pag. 41.

RESUMEN

El queso de la región de Olancho es un producto tradicional y típico de Honduras, reconocido por sus características sensoriales y por su aporte económico para la región. En Olancho se producen diferentes tipos de queso, como queso fresco, semiseco y quesillo, los cuales presentan características físicas y sensoriales distintas. La investigación se centra en aislar, identificar y caracterizar los hongos presentes en quesos artesanales elaborados en regiones del departamento de Olancho. Para evaluar el microbiota en los quesos, se analizaron nueve muestras correspondientes a tres tipos de queso de tres lugares diferentes. Las muestras fueron trituradas y se aplicó el método de dilución seriada, agregando 25 g de muestra a 225mL de agua peptonada al 0,1% y homogenizando. Luego se realizó la siembra en superficie utilizando una alícuota de 0.1mL sobre Agar Diclorán Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC), incubándose a 25 °C durante 5 días. Tras la incubación, se efectuó el conteo de colonias, expresando los resultados en logaritmo de unidades formadoras de colonia por gramo (Log UFC/g). La identificación y caracterización de los hongos se realizó mediante el análisis de sus características morfológicas, siguiendo los manuales de Maren A. Klich y John L. Pitt. En la muestra C1 se detectó *Trichothecium roseum* en la dilución 10^{-5} , mientras que *Aspergillus clavatus* se observó en la dilución 10^{-1} . En la muestra B1 se identificó el género *Penicillium* en la dilución 10^{-3} . En las demás muestras analizadas se observó la presencia del género *Cladosporium*, el cual estuvo ampliamente distribuido entre los distintos códigos evaluados.

Palabras Clave: Microbiota, diluciones, caracterización, contaminación, recuento.

I. INTRODUCCIÓN

Los quesos artesanales representan una importante tradición cultural y económica en muchas regiones de Honduras, siendo elaborados a partir de leche cruda por métodos tradicionales. Estos productos se caracterizan por una diversidad microbiana propia de sus entornos de producción, la cual influye directamente en la calidad sensorial y seguridad alimentaria (Fox et al. 2017). Dentro de la microbiota de los hongos filamentosos desempeña un papel importante en este tipo de alimentos, algunos son responsables del desarrollo de aromas y texturas en el queso, mientras que otros pueden deteriorar el producto o producir micotoxinas que pueden representar riesgos sanitarios (Van Dongen et al. 2021).

Debido que la presencia y composición de estos microorganismos varía según las condiciones de producción, resulta fundamental comprender los factores que determinan esta diversidad la cual es esencial para garantizar la calidad y seguridad de estos productos. La diversidad microbiológica de la leche depende de múltiples factores, tales como: las condiciones ambientales, los utensilios utilizados, el tipo de ordeño, y las prácticas higiénicas. Por esta razón, la identificación y caracterización de esta microbiota es importante para comprender la composición fúngica relacionada con los quesos elaborados de forma artesanal y su relación con las condiciones locales de producción (Rodriguez et al. 2004).

En la producción artesanal de queso, los hongos forman parte importante de la composición microbiana que define las propiedades de calidad, sensoriales y la identidad del producto final. Su estudio permite comprender los procesos naturales que ocurren durante la producción, así como las influencia que tienen los microorganismos presentes en la leche y en el entorno de elaboración.

Analizar la comunidad fúngica de las muestras de queso ofrece la oportunidad de descubrir especies con funciones beneficiosas para la calidad y particularidad de los quesos tradicionales hondureños. Además, genera conocimiento valioso para impulsar la innovación en la industria láctea a partir de microorganismos nativos, preservando al mismo tiempo las prácticas artesanales que caracterizan la producción de queso en Honduras.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

- Aislar, identificar y caracterizar los hongos presentes en quesos artesanales (queso fresco, queso semiseco, y quesillo) elaborados en diferentes regiones del departamento de Olancho, Honduras.

2.2. Objetivos específicos

- Recolectar muestras de queso fresco, queso semiseco y quesillo producidos artesanalmente en distintas regiones de Olancho.
- Realizar el aislamiento de hongos presentes en las muestras mediante técnicas microbiológicas estándar en medios selectivos.
- Determinar la carga fúngica total presente en los diferentes tipos de quesos artesanales mediante recuento en placas.
- Comparar la diversidad de los hongos aislados entre los distintos tipos de quesos artesanales (queso fresco, queso semiseco y quesillo).

III. REVISIÓN DE LITERATURA

La elaboración de queso es uno de los métodos más antiguos para preservar la leche, con orígenes que se remontan a la domesticación de animales. Los métodos usados en la producción de queso son esenciales para determinar las características como el aspecto y el sabor del producto, al mismo tiempo que ayudan a su conservación al limitar el crecimiento de microorganismos perjudiciales (Zheng et al. 2021).

En el último siglo, los avances en la ciencia de los lácteos y la notable industrialización, sumados a la mejora de los procesos de producción, han permitido desarrollar nuevos métodos para mejorar la consistencia y calidad de muchos quesos y facilitar su producción a gran escala en todo el mundo. Al mismo tiempo, los métodos de producción artesanal continúan siendo cruciales para numerosos queseros que, utilizando conocimientos y prácticas tradicionales de gran valor social y cultural, elaboran queso en menor escala (Martin y Cotter 2023).

Sin importar la escala de producción, los métodos de elaboración del queso evolucionan constantemente, lo que obliga a los productores a innovar para ofrecer productos que respondan a un mercado cada vez más exigente en términos de calidad. Al mismo tiempo, es fundamental minimizar los riesgos para la salud y las pérdidas ocasionadas por el deterioro de los alimentos (Martin y Cotter 2023).

En este contexto, el desarrollo de hongos en quesos artesanales puede tener una doble implicación, ya que algunas especies contribuyen al desarrollo de aromas, sabores y características sensoriales distintivas, contribuyendo a la creación de quesos diferenciados que destacan por su originalidad y valor cultural, elementos cada vez más apreciados por consumidores interesados en productos auténticos. Sin embargo, ciertos hongos pueden

resultar perjudiciales por su capacidad de producir micotoxinas o afectar la calidad del queso (Martin y Cotter 2023).

3.1. Industria láctea en Honduras

Honduras produce anualmente entre 695 y 800 millones de litros de leche, con una producción diaria estimada entre 1.7 y 2.5 millones de litros. El sector lechero hondureño se caracteriza por tener un 60% de producción artesanal y un 40% de plantas industriales. La producción total de leche en Honduras representa alrededor del 28% de la producción total de Centroamérica. Además, la cadena de valor de la leche contribuye de manera significativa al sector agropecuario del país, al representar aproximadamente un 15 % del PIB agrícola nacional. (SAG 2021).

En Honduras, gran parte de la producción láctea artesanal utiliza leche cruda (sin pasteurizar), lo que conlleva riesgos significativos para la salud pública (Ruíz Pérez et al. 2017). Aunque la normativa nacional prohíbe la venta de leche y lácteos no pasteurizados (La Gaceta 2001), en la práctica todos los quesos artesanales son elaborados con leche cruda debido a tradiciones y limitaciones técnicas locales.

3.2. Queso fresco

El queso fresco se elabora de manera tradicional a partir de leche cruda coagulada, generalmente mediante cuajo natural o quimosina de origen fúngico y sin una etapa de maduración posterior. Como consecuencia, este producto adquiere características específicas: un color blanco, humedad alta (usualmente superior al 50 %), textura blanda o granulada y sabor suave. Al no someterse a presión prolongada, su vida útil es corta y suele consumirse al pasar poco tiempo de fabricación (Tarazona Díaz 2018).

Desde el punto de vista microbiológico, el alto contenido de humedad y el pH moderado de este tipo de queso crea un ambiente adecuado para el desarrollo de hongos filamentosos y levaduras que están presentes en el ambiente. Estudios sobre quesos artesanales han reportado que los recuentos de levaduras y mohos pueden alcanzar valores elevados, llegando

en muchos casos a rangos entre 10^2 y 10^6 UFC/g, dependiendo de las condiciones de producción. Por ejemplo, en una revisión se identificó que los géneros de levaduras más frecuentemente aislados en quesos artesanales incluyen *Debaryomyces*, *Kluyveromyces*, *Torulaspora* y *Candida*, mientras que entre los hongos filamentosos aparecen especies de *Aspergillus*, *Fusarium* y *Acremonium* (Martin et al. 2023).

En un estudio centrado en quesos frescos artesanales de diferentes orígenes, las levaduras y los hongos filamentosos se presentaron en concentraciones en el rango de 10^2 a 10^5 UFC/g. En otro análisis que comparó quesos tradicionales frente a industriales, se evidenció que en los productos artesanales la diversidad de especies fúngicas es mayor que los factores fisicoquímicos como humedad, contenido de sal, pH y el método de fabricación afectan de manera directa sobre la composición de la microbiota del queso (Ermenlieva et al. 2025).

3.3. Queso semiseco

El queso semiseco (o queso semiduro artesanal) se produce de manera similar al fresco como con un breve periodo de desuerado y maduración que reduce parcialmente su humedad. Tradicionalmente, tras la coagulación de la leche cruda y moldeado, el queso se prensa y deja orear por días o semanas cortas, perdiendo agua hasta alcanzar una humedad intermedia (~40–50%). Esto le confiere una masa más firme, de sabor más pronunciado y ligeramente más salada que el queso fresco. Fisicoquímicamente, presenta actividad de agua menor y suele tener pH alrededor de 5–6, lo que limita en parte el crecimiento microbiano (Nájera et al. 2021).

Estudios microbiológicos revelan que estos quesos pueden albergar poblaciones notables de hongos y levaduras derivadas del ambiente de producción y de la microflora de la leche siendo, los más comunes del género *Penicillium spp*, *Aspergillus spp*, y *Fusarium spp* que aportan en el desarrollo y sabor del queso tradicional. En un estudio sobre queso semiduro venezolano expuesto en mercados, se reportó la presencia frecuente de mohos de los géneros *Penicillium* y *Aspergillus*.

3.4. Quesillo

El quesillo producido en Honduras es un queso de pasta hilada cuya elaboración se ha consolidado como una práctica tradicional en diversas regiones del país como en zonas rurales donde la actividad ganadera representa una fuente primaria de ingresos. A nivel socioeconómico, el quesillo constituye un producto de alto valor cultural y comercial, ya que su demanda se mantiene constante y su elaboración artesanal permite fortalecer la economía de familias y pequeñas plantas de procesamiento (Zelaya y Enrique 2002).

El quesillo es un queso fresco de pasta hilada, famoso por su textura fibrosa y elástica en forma de “hebras” o láminas enrolladas. Su elaboración tradicional involucra un paso crucial de escaldado de la cuajada: tras coagular la leche (cruda en la producción artesanal), la masa se sumerge en agua o suero caliente (70–80°C) y se amasa hasta formar tiras que luego se enrollan. Este tratamiento térmico parcial actúa como una pasteurización, reduciendo significativamente la carga microbiana inicial. El quesillo terminado tiene alto contenido de humedad (50%), poca maduración (se consume días después) y sabor suave, conservándose habitualmente en salmuera ligera para mantener su jugosidad (Grajales-Zuleta et al. 2025).

En cuanto a la parte microbiológica, debido a la manipulación manual que caracteriza su elaboración, el quesillo puede contaminarse con hongos filamentosos y levaduras durante las etapas de enfriamiento y almacenamiento. Estas condiciones, tomando en cuenta el alto contenido de humedad y al pH cercano a neutro, favorecen el desarrollo de una microbiota fúngica diversa. En estudios realizados sobre quesos de pasta hilada y quesos frescos tradicionales, se han observado colonias de hongos filamentosos en la superficie, principalmente de los géneros *Cladosporium*, *Penicillium* y *Aspergillus* (Ropars et al. 2020, Grajales-Zuleta et al. 2025).

3.5. Hongos Filamentosos en quesos

Durante miles de años, se han utilizado hongos para la producción de una amplia gama de alimentos fermentados, incluyendo panes y bebidas alcohólicas. A pesar de la importancia biotecnológica de los hongos, hasta la fecha la mayoría de los esfuerzos se han centrado en

el estudio de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, que se utiliza ampliamente en la producción de cerveza, vino y productos de panadería, y los hongos filamentosos *Aspergillus oryzae*, cuyo inóculo se utiliza en la producción de sake y salsa de soja, y *Penicillium roqueforti* (Ropars et al. 2020).

En comparación con otras investigaciones centradas en el papel de las bacterias, especialmente las del ácido láctico, en los procesos de fermentación de alimentos, el estudio de los hongos ha recibido mucha menos atención (Martin y Cotter 2023). Los hongos y levaduras a menudo residen en la superficie de los quesos, lo que les confiere una apariencia aterciopelada distintiva, especialmente *Penicillium camemberti*, *Geotrichum candidum* y *Fusarium domesticum* (O'Sullivan y Cotter 2017).

3.6. Efectos causados por hongos en quesos artesanales

En los quesos artesanales, los hongos desempeñan un papel importante en el desarrollo de características sensoriales, en la preservación del producto. Diversas especies fúngicas contribuyen positivamente a la formación de la corteza, la generación de compuestos aromáticos y la creación de texturas únicas que distinguen a los quesos tradicionales. Esta diversidad microbiana forma parte del valor agregado de los productos artesanales. Sin embargo, cuando proliferan especies no deseadas, pueden surgir defectos o riesgos de inocuidad, por lo que el control del ambiente sigue siendo esencial para aprovechar sus beneficios (Neviani et al. 2025).

Los hongos presentes en quesos artesanales desempeñan un papel esencial en el desarrollo de sus características sensoriales. Especies como *Penicillium*, *Geotrichum* y diversas levaduras contribuyen a la proteólisis y lipólisis, generando compuestos aromáticos que enriquecen el sabor, el aroma y la textura del producto. Además, algunos hongos actúan como bioprotectores al inhibir microorganismos no deseados, favoreciendo una maduración más estable y segura. Su presencia controlada no solo mejora la calidad sensorial, sino que

también aporta valor tecnológico y diferenciación a los quesos artesanales (Boutrou y Guéguen 2005).

Sin embargo, cuando estas especies aparecen fuera de un control adecuado o en condiciones no deseadas, el efecto puede ser contrario. Los problemas en la producción de queso son diversos y pertenecen a varios géneros como *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Eurotium*, *Exophiala*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Lecanicillium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* y *Wallemia*. (Ropars et al. 2020).

Los hongos presentes en quesos artesanales no madurados pueden influir notablemente en el sabor aun sin participar en procesos largos de maduración. Su actividad metabólica inicial puede generar compuestos como alcoholes, ácidos orgánicos y aldehídos que modifican el aroma y las primeras percepciones gustativas del producto. Algunas especies pueden acentuar notas ligeramente ácidas, amargas o terrosas según su capacidad para transformar lactosa, proteínas o lípidos en metabolitos sencillos. Estos cambios sensoriales suelen relacionarse con la carga fúngica, el tipo de hongo presente y las condiciones higiénicas del proceso, pudiendo afectar la aceptabilidad del queso (Anastasiou et al. 2022).

Los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* representan las principales fuentes de preocupación, siendo *Penicillium* especialmente relevante, ya que se ha identificado como el hongo de deterioro predominante en aproximadamente el 50% al 90% de los quesos elaborados en distintos países (Garnier et al. 2017).

Asimismo, las esporas fúngicas, aunque generalmente son sensibles a los tratamientos térmicos intensos, pueden representar un problema cuando se emplea leche cruda en la elaboración de quesos, ya que esta puede actuar como vehículo de contaminación y favorecer la presencia de hongos durante el proceso de producción (Decontardi et al. 2017).

3.7. Factores que afectan la microbiota de los quesos

La formación de la microbiota del queso está sujeto a una interacción de diversos factores. Las condiciones abióticas, como el pH, la humedad y la temperatura, así como los

procedimientos empleados en el proceso de elaboración del queso, la materia prima y el entorno de procesamiento, juegan un papel esencial. Entre los factores abióticos, la humedad es el más crítico. Los entornos más secos favorecen el desarrollo de *Debaryomyces* y los hongos filamentosos *Aspergillus* y *Scopulariopsis* se encuentran en mayor número. Estos géneros también se encuentran en gran prevalencia en los quesos (Wolfe et al. 2014).

El pH tiene un impacto importante en la capacidad de los hongos filamentosos para crecer en los quesos, en general, crecen bien al pH del producto. Además, la mayoría de los hongos son relativamente tolerantes a la salinidad. La temperatura también puede favorecer el crecimiento de un grupo microbiano sobre otros. Otro factor importante corresponde al tipo de procesamiento utilizado en la producción del queso, los microorganismos presentes en las superficies de los equipos y utensilios, así como en el aire del ambiente de producción, se incorporan a los quesos durante el procesamiento (Martin y Cotter 2023).

3.8. Importancia de la caracterización microbiológica de quesos artesanales

Resulta fundamental la caracterización microbiológica de los quesos artesanales para evaluar su calidad e inocuidad. Conocer qué microorganismos (bacterias, levaduras y mohos) están presentes en estos quesos permite identificación de cepas que ayuden a la mejora en las características sensoriales de los quesos así como la identificación de posibles patógenos (López et al. 2018).

Por otro lado, una adecuada caracterización microbiana abre la puerta a aprovechar hongos beneficiosos en la producción. Muchos quesos tradicionales deben parte de sus cualidades a levaduras y mohos nativos que intervienen en la maduración y desarrollo de sabores únicos (Aranda et al. 2025). Al identificar estas especies útiles, es posible incorporarlas de manera controlada en la elaboración. Por ejemplo, ciertos mohos del género *Penicillium* (como *P. camemberti* en quesos de corteza blanca o *P. roqueforti* en quesos azules) son adicionados intencionalmente durante el proceso para mejorar el producto, ya que contribuyen a sabores y texturas distintivos apreciados por el consumidor (Aranda et al. 2025).

Además, la caracterización microbiológica aporta al control de calidad: al conocer la flora presente, los productores pueden estandarizar fermentaciones y asegurar cierta consistencia en las propiedades organolépticas (sabor, aroma, textura) de cada lote de queso (Merchán et al. 2019).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Descripción del área de análisis microbiológico

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Micología y Micotoxinas del Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Universidade Federal de Lavras (UFLA), ubicada en el estado de Minas Gerais, Brasil. Este laboratorio cuenta con una infraestructura especializada para la investigación microbiológica y micotoxicológica de alimentos, equipado para el aislamiento, cultivo, purificación e identificación de hongos filamentosos y levaduras.

El Laboratorio de Micología y Micotoxinas desarrolla investigaciones orientadas a la caracterización microbiológica de productos del área de alimentos y cuenta con experiencia en el análisis de productos lácteos y derivados. En este espacio se realizaron los procedimientos correspondientes a las etapas de aislamiento, purificación, conservación e identificación morfológica de los hongos filamentosos presentes en las muestras de queso artesanal del departamento de Olancho, Honduras.

4.2. Materiales y Equipos

Tabla 1 Materiales y equipos

Materiales	Equipos
Bolsas estériles	Balanza analítica
Caja térmica	Termómetro
Cuchillo de acero inoxidable	Matraz de 250 mL
Bolsas Stomacher	Beaker de 500 mL
Palillos de madera estériles	Autoclave
Pipetas de 1mL y de 0.1ml	Incubadora
Tubos de ensayo de 10 mL	Horno de secado
Placas Petri autoclavables	Mechero Bunsen
Botes de vidrio de 500 mL	Capela o cabina de flujo laminar
Tubos Eppendorf	Ultrafreezer
Guantes de látex y mascarilla	Microscopio óptico
Probetas de 100 mL y 1000 mL	

4.3. Muestreo

Las muestras fueron recolectadas en el mes de mayo de 2025 en tres puntos de venta de productos lácteos ubicados en diferentes regiones del departamento de Olancho, Honduras: Culmí, Jutiquire y Catacamas. En cada punto de venta se obtuvieron tres tipos de queso elaborados de forma artesanal: queso fresco, queso semiseco y quesillo.

Cada muestra fue identificada mediante un código alfanumérico que indica el lugar de procedencia y el tipo de queso, quedando de la siguiente manera:

- Culmí: A1 (queso fresco), A2 (queso semiseco), A3 (quesillo).
- Jutiquire: B1 (queso fresco), B2 (queso semiseco), B3 (quesillo).
- Catacamas: C1 (queso fresco), C2 (queso semiseco), C3 (quesillo).

Las muestras, con un peso aproximado de 1 kg cada una, fueron empacadas al vacío en bolsas estériles para evitar contaminación externa y garantizar la integridad microbiológica del producto. Posteriormente, se transportaron en cajas térmicas con acumuladores de frío, manteniendo una temperatura controlada entre 1 y 5 °C durante el traslado hacia el Laboratorio de Micología y Micotoxinas del Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Universidade Federal de Lavras (UFLA), Minas Gerais, Brasil.

Una vez recibidas en el laboratorio, las muestras fueron almacenadas en ultrafreezer a -70 °C, con el fin de detener la actividad metabólica y la reproducción de los microorganismos presentes, permitiendo así su conservación hasta el momento del análisis.

4.4. Aislamiento de hongos filamentosos

El aislamiento de hongos presentes en las muestras de queso se realizó siguiendo un procedimiento microbiológico estandarizado. Para cada muestra, se pesaron 25 g de queso, los cuales fueron colectados en seis puntos equidistantes del producto con el objetivo de obtener una porción representativa. Dichas muestras se colocaron en un matraz estéril que contenía 225 mL de una solución de citrato de sodio al 2%, empleada como diluyente. La mezcla se homogeneizó hasta lograr la disolución total de las partículas del queso, obteniendo así una suspensión uniforme.

Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas decimales desde 10^{-1} hasta 10^{-6} , transfiriendo 0.1 mL de cada dilución a tubos de ensayo que contenían 9 mL de agua peptonada al 0.1%, la cual actúa como medio diluyente y de mantenimiento de la viabilidad microbiana.

De cada dilución, se sembraron 0.1 mL por triplicado mediante el método de siembra por extensión en superficie, utilizando los medios de cultivo Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) y Yeast Extract Peptone Glucose (YEPG). El medio DRBC es selectivo para el crecimiento de hongos y levaduras en alimentos, ya que inhibe el desarrollo

de bacterias y restringe el crecimiento excesivo de hongos filamentosos, mientras que el medio YEPG favorece el crecimiento y aislamiento de levaduras presentes en las muestras.

Las placas se incubaron a 25 °C durante siete días, en condiciones de oscuridad, permitiendo el desarrollo visible de las colonias fúngicas. Transcurrido el período de incubación, se procedió al conteo de colonias fúngicas características para la selección de aislamientos representativos destinados a su posterior identificación morfológica.

4.5. Purificación de hongos filamentosos

Para la purificación e identificación morfológica de los hongos aislados, se evaluaron las características macroscópicas de las colonias desarrolladas en los medios de cultivo, considerando aspectos como color, forma, tamaño, textura de la superficie y tipo de borde, con el fin de diferenciar los morfotipos presentes en cada muestra.

Con el objetivo de determinar el número de hongos a aislar, se aplicó la técnica de la raíz cuadrada, seleccionando aleatoriamente un número de colonias equivalente a la raíz cuadrada del total de colonias observadas en todos los medios de cultivo. Este procedimiento permitió obtener una representación proporcional y estadísticamente significativa de la diversidad fúngica presente en las muestras.

Las colonias seleccionadas se traspasaron a placas que contenían medio Agar Malta (MA), utilizado para el crecimiento y mantenimiento de hongos filamentosos. Los cultivos se incubaron a 25 °C durante siete días, permitiendo el desarrollo de micelios bien definidos.

Posteriormente, los aislamientos purificados se conservaron en tubos Eppendorf estériles, congelados, con el propósito de preservar su viabilidad y facilitar su reactivación en etapas posteriores del proceso de identificación morfológica.

4.6. Identificación morfológica de hongos filamentosos

La identificación morfológica de los hongos filamentosos purificados se realizó mediante la observación detallada de sus características macroscópicas y microscópicas, empleando medios de cultivo y condiciones de incubación específicas para cada género.

Los aislamientos pertenecientes a los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* se cultivaron en agar CYA (Czapek Yeast Extract Agar) y agar Czapek Dox, con incubaciones a 25 °C y 37 °C, respectivamente, y en agar extracto de malta con levadura (MEA) a 25 °C. Para los demás géneros fúngicos se utilizó exclusivamente el medio MEA, con incubación a 25 °C durante siete días.

La siembra en los medios Czapek Yeast Extract Agar (CYA), Czapek Dox Agar y Malt Extract Agar (MEA) tuvo como finalidad observar las características morfológicas diferenciales de los hongos aislados, esenciales para su identificación taxonómica. Los medios CYA y Czapek Dox se emplearon principalmente para los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, ya que permiten comparar el crecimiento y la producción de pigmentos bajo distintas condiciones nutricionales. El CYA favorece el desarrollo y la expresión de colores y texturas típicas, mientras que el Czapek Dox, más restrictivo, permite evaluar el crecimiento diferencial y la termotolerancia de las especies. Por su parte, el medio MEA se utilizó para el crecimiento general y la esporulación de todos los aislamientos, ya que promueve colonias bien desarrolladas y pigmentadas, útiles para la caracterización morfológica. En conjunto, el empleo de estos medios permitió una observación más completa de los rasgos macroscópicos empleados en la identificación de los hongos filamentosos (Klich 2002, Pitt y Hocking 1998).

Transcurrido el período de incubación, se evaluaron las características macroscópicas de las colonias (color, textura, aspecto del reverso y tipo de borde) y las características microscópicas (estructura conidiógena, forma de las fiálides, conidios, vesículas y conidióforos) de cada aislamiento. La identificación taxonómica se realizó siguiendo los criterios descritos en los manuales especializados: (Klich 2002) para el género *Aspergillus*,

(Pitt y Hocking 1998) para *Penicillium*, y (Samson 2002) para otros géneros fúngicos. El uso combinado de estos parámetros permitió establecer una identificación preliminar a nivel de género.

4.7. Preservación de los hongos filamentosos

Los aislamientos obtenidos se conservaron inicialmente mediante suspensión del micelio en 1 mL de glicerol estéril al 20 %, depositado en microtubos Eppendorf, los cuales se almacenaron a una temperatura de -20°C hasta completar el proceso de identificación.

Posteriormente, los aislados identificados fueron depositados en la Colección de Cultivos de Microorganismos del Departamento de Ciencia de los Alimentos (CCDCA) de la Universidade Federal de Lavras (UFLA), donde se mantienen bajo condiciones controladas para su preservación y disponibilidad para futuros estudios.

4.8. Análisis estadístico

Para cada muestra se realizaron tres repeticiones independientes, los datos obtenidos de los recuentos microbianos en los diferentes medios de cultivo (YEPG y DRBC) se transformaron mediante $\log(x + 1)$ antes del análisis para cumplir los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas (Cavaglieri et al. 2009). Posteriormente, los valores transformados se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) bifactorial, considerando como factores el lugar de muestra y el medio de cultivo, las medias se compararon mediante la prueba de Tukey al nivel de significancia del 5% ($p < 0.05$).

El análisis permitió determinar si existían diferencias significativas entre las medias de crecimiento microbiano en los distintos tratamientos y medios de cultivo. Los resultados se expresaron como medias $\pm$ error estándar (E.E.), y las diferencias estadísticas se identificaron mediante letras superíndices diferentes.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 2 Población de hongos de las muestras de queso ($\log(x+1)$ UFC·g⁻¹)

Muestra	$(\log(x+1)$ UFC·g ⁻¹)	
	Medio YEPG	Medio DRBC
A1	0.28±0.18A ^a	0.32±0.15A ^a
A2	0.00 ± 0.0A ^a	0.00 ± 0.00A ^a
A3	0.00 ± 0.00A ^a	0.00 ± 0.00A ^a
B1	0.7±0.18A ^a	0.16±0.15A ^b
B2	0.10 ± 0.18A ^a	0.48±0.15A ^b
B3	0.47±0.18A ^a	0.16± 0.15A ^a
C1	0.52±0.18A ^a	0.32±0.15A ^a
C2	0.00 ± 0.00A ^a	0.32±0.15A ^a
C3	0.00 ± 0.00A ^a	0.00 ± 0.00A ^a

Los valores promedio en la misma columna con diferentes letras mayúsculas y minúsculas en superíndice difieren estadísticamente ($p < 0.05$) con respecto a las muestras y a los medios de cultivo respectivamente.

5.1.Población fúngica en las muestras

Los datos originales de unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g) fueron transformados aplicando la función $\log(x + 1)$ con el objetivo de normalizar la distribución de los datos y cumplir y la homogeneidad de varianza requeridos para el análisis de varianza (ANOVA), los resultados se expresan en valores de $\log(x + 1)$.

Según el análisis estadístico realizado, no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los distintos tipos de muestra, por otra parte se observaron diferencias significativas entre medios (YEPG y DRBC) en las muestras B1 y B2, mientras que en el resto de las

muestras no se registraron diferencias significativas, lo que indica una distribución homogénea de la población fúngica entre las diferentes muestras de queso analizados.

Los recuentos fúngicos obtenidos en los medios YEPG y DRBC mostraron variaciones entre las diferentes muestras de queso artesanal analizadas (Tabla 2). En general, los valores registrados fueron bajos, con rangos entre 0.00 y 0.70 $\log(x + 1)$ UFC·g⁻¹, lo que indica una carga fúngica reducida en la mayoría de las muestras. Las muestras A2, A3 y C3 no presentaron crecimiento visible de colonias en ninguno de los medios, en comparación con las muestras B1 y B2 las cuales mostraron los valores más altos en los medios evaluados

Tabla 3 Aislamientos fúngicos de las muestras de queso

Hongos	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3
<i>Cladosporium</i> spp.	7	—	—	3	—	2	4	2	—
<i>Penicillium</i> spp.	—	—	—	1	1	1	—	—	—
<i>Aspergillus clavatus</i>	—	—	—	—	—	—	1	—	—
<i>Trichothecium roseum</i>	—	—	—	—	—	—	1	—	—
Total de aislamientos	7	0	0	4	1	3	6	2	0

En general, se observó una baja presencia de hongos en las muestras, con valores promedio que oscilaron entre 0.00 y 0.70 $\log(x + 1)$ UFC·g⁻¹. Las muestras B1 y B2 presentaron los valores más altos, con $0.70 \pm 0.18 \log(x + 1)$ UFC·g⁻¹ en el medio YEPG y $0.48 \pm 0.18 \log(x+1)$ UFC·g⁻¹ en el medio DRBC, respectivamente. Por otro lado, las muestras A2, A3, C2 y C3 no presentaron crecimiento de hongos filamentosos detectable en ninguno de los medios utilizados.

5.2. Hongos identificados en las muestras de queso

Durante el proceso de aislamiento e identificación morfológica de los hongos filamentosos presentes en las muestras de queso artesanal, se obtuvieron aislamientos pertenecientes a los géneros *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Trochothecium* (Tabla 3).

El género *Cladosporium* fue el más frecuente, representando la mayor proporción de aislamientos en las regiones muestreadas, seguido por *Penicillium*, mientras que *Aspergillus clavatus* y *Trichothecium roseum* se detectaron únicamente en una de las muestras. En particular, la muestra C1 presentó la mayor diversidad de especies fúngicas, con la presencia de *Cladosporium*, *Aspergillus clavatus* y *Trichothecium roseum*.

La presencia de hongos en determinados tipos de queso es considerada normal e incluso beneficiosa, ya que resulta fundamental para el desarrollo de las características sensoriales propias de los quesos artesanales elaborados con leche cruda. Diversos factores ambientales, como la humedad relativa y la temperatura, junto con las propiedades fisicoquímicas del queso, entre ellas el pH, la concentración de cloruro de sodio (NaCl), la actividad de agua (*a_w*) y el contenido de humedad que influyen directamente en la composición microbiana y en la tipicidad del producto, desempeñando un papel determinante en su calidad y perfil microbiológico final (Souza et al. 2021).

Los hongos filamentosos que se encuentran en los quesos pueden tener su origen en múltiples fuentes de contaminación, entre ellas el agua empleada en el proceso, el aire del ambiente y los equipos o utensilios utilizados durante la elaboración. Asimismo, las glándulas mamarias de los animales y las manos del personal encargado del ordeño constituyen vías relevantes de introducción de estos microorganismos en la materia prima y, en consecuencia, en el producto final (Moubasher et al. 2018).

El género *Cladosporium* fue el más frecuente entre los aislamientos obtenidos, lo cual coincide con trabajos en los que se describe a *Cladosporium* como uno de los géneros dominantes en salas de maduración de quesos junto a *Penicillium* y *Aspergillus* (Kandasamy

et al. 2020). En particular, se identificaron aislamientos de *Cladosporium* en las muestras analizadas, lo que refuerza su papel como contaminante ambiental habitual en quesos artesanales.

Asimismo, el género *Penicillium* se identificó en varias de las muestras analizadas, lo que concuerda con diversos estudios que lo señalan como uno de los hongos más comunes en quesos artesanales y en ambientes de maduración. Este género presenta una gran diversidad de especies, algunas con importancia tecnológica, empleadas en la maduración y desarrollo del sabor en quesos tipo azul o de corteza florecida (Hymery et al. 2014).

Además, ciertas cepas de *Penicillium* pueden ejercer un efecto competitivo frente a microorganismos indeseables, favoreciendo la estabilidad microbiológica durante la maduración. Por esta razón, su detección en quesos elaborados artesanalmente podría asociarse no solo a contaminación ambiental, sino también a la presencia natural de especies con potencial tecnológico que participan de manera activa en las características sensoriales del producto, especialmente en aquellos sometidos a periodos cortos de oreo o maduración (Chen et al. 2022).

El género *Penicillium* comprende más de 350 especies descritas y se encuentra ampliamente distribuido en ambientes naturales como aire, suelo, plantas y alimentos. Su capacidad para crecer a bajas temperaturas, resistir condiciones variables de humedad y colonizar sustratos ricos en carbohidratos lo convierte en uno de los mohos más comunes en productos alimenticios. Desde el punto de vista microbiológico, *Penicillium* destaca por producir un conjunto diverso de enzimas extracelulares particularmente proteasas, lipasas, celulasas y amilasas, que le permiten degradar proteínas, lípidos y polisacáridos presentes en los alimentos. Esta versatilidad metabólica es la razón por la cual algunas especies se consideran organismos de importancia tecnológica (Mioso et al. 2015).

Asimismo, en una de las muestras se identificó la especie *Aspergillus clavatus*, lo que refleja la capacidad del género *Aspergillus* para colonizar ambientes de maduración, superficies lácteas y productos almacenados bajo condiciones de humedad moderada. Este hongo es de crecimiento rápido y puede desarrollarse en alimentos con bajo contenido de agua,

especialmente en aquellos con alto contenido proteico, como los productos lácteos (Pitt y Hocking 1998).

Aunque *A. clavatus* no es una de las especies más frecuentes en quesos, su presencia ha sido documentada en diversos estudios como parte de la microflora ambiental de plantas procesadoras y cámaras de maduración, donde actúa principalmente como contaminante secundario (Hymery et al. 2014).

La detección de *A. clavatus* en una de las muestras de queso artesanal analizadas sugiere que la contaminación probablemente tuvo un origen ambiental, posiblemente a través del aire, el polvo o los utensilios empleados durante la elaboración o el almacenamiento. Aunque su presencia fue limitada, resulta relevante desde el punto de vista de la seguridad alimentaria, ya que demuestra que incluso en quesos con baja carga fúngica pueden encontrarse especies con potencial deteriorante o toxigénico, especialmente si las condiciones de conservación no son óptimas (Kure y Skaar 2019).

En una de las muestras analizadas se identificó la especie *Trichothecium roseum*, un hongo filamentoso poco frecuente en productos lácteos, pero que ha sido reportado en estudios sobre la microbiota ambiental de quesos artesanales y en superficies de maduración expuestas al aire (Respinis et al. 2023). Su presencia en el queso sugiere una contaminación ambiental de o superficial, probablemente asociada al ambiente de producción o almacenamiento. Aunque *T. roseum* no cumple una función tecnológica en la maduración del queso, su detección es relevante, ya que algunas cepas pueden producir metabolitos secundarios del grupo de las tricotecenas, compuestos con potencial toxigénico cuando el hongo crece en condiciones favorables.

El entorno de producción de los quesos analizados se caracteriza por encontrarse en propiedades rurales, muchas de ellas rodeadas de pastos, cultivos y animales domésticos, lo cual favorece la dispersión de esporas fúngicas provenientes del suelo, del aire y de los residuos orgánicos. Este contexto ambiental constituye un factor determinante en la presencia de hongos Identificados en las muestras de este estudio (Souza et al. 2021).

De acuerdo con (Bernardi et al. 2019), las instalaciones de procesamiento de alimentos, particularmente en ambientes abiertos o con ventilación natural, pueden actuar como reservorios de esporas, las cuales se depositan sobre las superficies, utensilios o directamente sobre los alimentos durante su elaboración y almacenamiento. Asimismo, (Kandasamy et al. 2020) demostraron que las superficies de trabajo, paredes, pisos y el aire de las salas de producción albergan una amplia variedad de hongos filamentosos, que luego pueden ser transferidos al producto, especialmente cuando las prácticas de higiene son insuficientes o irregulares.

Los resultados obtenidos permiten describir de manera clara la diversidad y distribución de los hongos filamentosos presentes en los quesos artesanales evaluados, evidenciando cargas fúngicas generalmente bajas y la presencia recurrente de géneros ampliamente reportados en este tipo de productos. Las diferencias observadas entre regiones y tipos de queso reflejan la variabilidad propia de los procesos artesanales y de las características fisicoquímicas de cada una de las muestras analizadas, lo cual influye en la composición fúngica identificada. Esta caracterización aporta información relevante para comprender el perfil microbiológico de los quesos analizados y establece los elementos necesarios para discutir su calidad e inocuidad.

VI. CONCLUSIONES

El estudio permitió aislar, identificar y caracterizar los hongos filamentosos presentes en quesos artesanales elaborados en distintas regiones del departamento de Olancho, aportando una visión clara de la micobiota asociada a estos productos tradicionales. La recolección de muestras de queso fresco, semiseco y quesillo en tres localidades, junto con la aplicación de técnicas microbiológicas estandarizadas en medios selectivos, aseguró la obtención de aislamientos representativos y confiables.

Los recuentos fúngicos mostraron en general una carga microbiana baja, con variaciones entre medios y entre algunas muestras, lo que indica que la presencia de hongos en los quesos analizados es limitada pero variable según el tipo de queso y el entorno de producción. Esta información permite comprender mejor el comportamiento microbiológico de los productos artesanales evaluados.

En cuanto a la diversidad fúngica, se identificaron hongos pertenecientes a los géneros *Cladosporium spp.* y *Penicillium spp.* como los más frecuentes, mientras que *Aspergillus clavatus* y *Trichothecium roseum* fueron detectados en menor proporción en muestras específicas. Estas diferencias reflejan la influencia de las condiciones propias de cada región y de los métodos artesanales utilizados en la producción.

Los resultados obtenidos evidencian que los quesos artesanales elaborados con leche cruda presentan una micobiota característica, compuesta principalmente por géneros fúngicos comúnmente asociados a productos lácteos. La caracterización realizada fortalece el conocimiento sobre la calidad e inocuidad de los quesos artesanales de Olancho y constituye una base para futuras investigaciones orientadas al control microbiológico, la mejora de la producción y la posible identificación de cepas con potencial tecnológico.

VII. RECOMENDACIONES

Se recomienda fortalecer las buenas prácticas de manufactura mediante capacitación continua a los productores artesanales en higiene personal, manipulación segura de alimentos y prevención de contaminación cruzada. Es esencial usar ropa y calzado adecuados y controlar el movimiento del personal entre áreas limpias y contaminadas. Además, deben establecerse protocolos rigurosos de limpieza y desinfección de instalaciones, equipos y utensilios, ya que el ambiente y las superficies representan las principales fuentes de contaminación fúngica en los quesos artesanales.

Se recomienda establecer un banco local de microorganismos para conservar y gestionar las cepas fúngicas aisladas de quesos artesanales de Olancho. Esta colección garantizaría material biológico confiable para estudios de identificación molecular, evaluación de potencial toxigénico y análisis del comportamiento de los hongos en el proceso y almacenamiento del queso. Además, permitiría explorar cepas con uso tecnológico, fortalecer las capacidades investigativas locales y servir como referencia comparativa entre estudios, impulsando la innovación en microbiología de alimentos.

Se recomienda profundizar en la evaluación del potencial tecnológico de las especies fúngicas aisladas, especialmente del género *Penicillium*, debido a que algunas cepas podrían aportar características sensoriales valiosas en quesos. Futuras investigaciones deberían analizar su actividad enzimática, crecimiento en matrices lácteas, estabilidad morfológica y ausencia de metabolitos indeseables para determinar su idoneidad en procesos de maduración controlada o en el desarrollo de nuevos productos lácteos regionales. Esto permitiría identificar microorganismos nativos con capacidad de ofrecer valor agregado a la producción artesanal de queso.

VIII. BIBLIOGRAFIAS

Anastasiou, R; Kazou, M; Georgalaki, M; Aktypis, A; Zoumpopoulou, G; Tsakalidou, E. 2022. Omics Approaches to Assess Flavor Development in Cheese. *Foods* 11(2):188. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods11020188>.

Aranda, C; Rodriguez, R; Fernández-Baldo, MA; Durán, P. 2025. Mycotoxins in Cheese: Assessing Risks, Fungal Contaminants, and Control Strategies for Food Safety. *Foods* 14(3):351. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods14030351>.

Barre, L; Brasseur, E; Doux, C; Lombard, B; Besse, NG. 2015. Sensitive enumeration of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in various naturally contaminated matrices using a membrane filtration method. *Food Microbiology* 48:171-177. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.10.012>.

Bernardi, AO; Garcia, MV; Copetti, MV. 2019. Food industry spoilage fungi control through facility sanitization. *Current Opinion in Food Science (Serie Trends in sustainable food processing • Food Mycology)* 29:28-34. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.07.006>.

Boutrou, R; Guéguen, M. 2005. Intereses en *Geotrichum candidum* para la tecnología del queso. *International Journal of Food Microbiology* 102(1):1-20. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.12.028>.

Cavaglieri, L; Orlando, J; Etcheverry, M. 2009. Rhizosphere microbial community structure at different maize plant growth stages and root locations. *Microbiological Research* 164(4):391-399. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2007.03.006>.

Chen, W; Lv, X; Tran, V-T; Maruyama, J; Han, K-H; Yu, J-H. 2022. Editorial: From Traditional to Modern: Progress of Molds and Yeasts in Fermented-Food Production (en línea). *Frontiers in Microbiology* 13. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.876872>.

Decontardi, S; Mauro, A; Lima, N; Battilani, P. 2017. Survey of *Penicillia* associated with Italian grana cheese. *International Journal of Food Microbiology* 246:25-31. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.01.019>.

Ermenlieva, N; Stamova, S; Ivanova, N; Atanasova, P; Marinova, V; Ibryamova, S; Ivanov, I; Georgieva, E. 2025. Yeast Ecology in White Brined Cheeses: Correlations with Physicochemical Parameters in Artisanal and Industrial Products. *Microorganisms* 13(9):1965. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms13091965>.

Fox, PF; Guinee, TP; Cogan, TM; McSweeney, PLH. 2017. *Fundamentals of Cheese Science* (en línea). Boston, MA, Springer US. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9>.

Garnier, L; Valence, F; Pawtowski, A; Auhustsinava-Galerie, L; Frotté, N; Baroncelli, R; Deniel, F; Coton, E; Mounier, J. 2017. Diversity of spoilage fungi associated with various French dairy products. *International Journal of Food Microbiology* 241:191-197. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.10.026>.

Grajales-Zuleta, A; Estrada, S; Hermosa, A; Recio, I; Miralles, B; Villamiel, M. 2025. Characterization of Quesillo Caquetá with Protected Designation of Origin (PDO): Mineral Composition and Carbohydrate, Fatty Acid, and Peptide Profiles. *Dairy* 6(5):52. DOI: <https://doi.org/10.3390/dairy6050052>.

Hymery, N; Vasseur, V; Coton, M; Mounier, J; Jany, J; Barbier, G; Coton, E. 2014. Filamentous Fungi and Mycotoxins in Cheese: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 13(4):437-456. DOI: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12069>.

Kandasamy, S; Park, W; Yoo, J; Yun, J; Kang, H; Seol, K-H; Oh, M; Ham, J. 2020. Characterisation of fungal contamination sources for use in quality management of cheese production farms in Korea. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences* 33:1002-1011. DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.19.0553>.

Klich. 2002. Identification of common *Aspergillus* species. *Centraalbureau voor Schimmelcultures* (ed.). Utrecht, Centraalbureau voor Schimmelcultures. 116 p.

Kure, CF; Skaar, I. 2019. The fungal problem in cheese industry. *Current Opinion in Food Science (Serie Trends in sustainable food processing • Food Mycology)* 29:14-19. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.07.003>.

La Gaceta. 2001. REGLAMENTO PARA LA INSPECCION Y CERTIFICACION SANITARIA DE LA LECHE Y LOS PRODUCTOS LACTEOS. (en línea). s.l., s.e. Disponible en <https://senasa.gob.hn/web/wp-content/uploads/2022/02/Acuerdo-N%C2%B0-656-01-Reglamento-para-la-Inspeccion-y-Certificacion-Sanitaria-de-la-Leche-y-los-Productos-de-Origen-Animal.pdf#:~:text=sometidos%20a%20otros%20tratamientos>.

López, JDF; Enriquez, M de L; Montoya, BD; Ocaña, AN. 2018. Caracterización molecular y serológica de *Escherichia coli* en Quesos artesanales de seis departamentos de Honduras. *Portal de la Ciencia* :23-40. DOI: <https://doi.org/10.5377/pc.v0i14.6636>.

Martin, JGP; Cotter, PD. 2023. Filamentous fungi in artisanal cheeses: A problem to be avoided or a market opportunity? *Heliyon* 9(4):e15110. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15110>.

Martin, JGP; Silva, JMM; César, IC da R; da Silva, M; Santana, SA; Veloso, TGR; Silva, JG e; Ferreira, CL de LF; Leech, J; Cotter, PD. 2023. Seasonal variation in the Canastra cheese mycobiota (en línea). *Frontiers in Microbiology* 13. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1076672>.

Merchán, N; Zurymar T, S; Niño, L; Urbano, E; Merchán, N; Zurymar T, S; Niño, L; Urbano, E. 2019. Determinación de la inocuidad microbiológica de quesos artesanales según las normas técnicas colombianas. *Revista chilena de nutrición* 46(3):288-294. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0717-75182019000300288>.

Mioso, R; FJ, TM; I., HB. 2015. *Penicillium roqueforti*: una fábrica celular multifuncional de moléculas de alto valor añadido | *Journal of Applied Microbiology* | Oxford Academic (en línea, sitio web). Consultado 12 nov. 2025. Disponible en <https://academic.oup.com/jambio/article/118/4/781/6716826>.

Moubasher, A-AH; Abdel-Sater, MA; Soliman, ZSM. 2018. Yeasts and filamentous fungi associated with some dairy products in Egypt. *Journal de Mycologie Médicale* 28(1):76-86. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2017.12.003>.

Nájera, AI; Nieto, S; Barron, LJR; Albisu, M. 2021. A Review of the Preservation of Hard and Semi-Hard Cheeses: Quality and Safety. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 18(18):9789. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph18189789>.

Neviani, E; Gatti, M; Gardini, F; Levante, A. 2025. Microbiota of Cheese Ecosystems: A Perspective on Cheesemaking. *Foods* 14(5):830. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods14050830>.

O'Sullivan, O; Cotter, PD. 2017. Chapter 12 - Microbiota of Raw Milk and Raw Milk Cheeses (en línea). In *McSweeney, PLH; Fox, PF; Cotter, PD; Everett, DW (eds.)*. San Diego, Academic Press. p. 301-316 DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00012-0>.

Pitt, JI; Hocking, AD. 1998. *Fungi and food spoilage* (en línea). 3rd ed. New York, Springer-Verlag. Disponible en [10.1007/978-0-387-92207-2](https://doi.org/10.1007/978-0-387-92207-2).

Respinis, S; Caminada, A; Pianta, E; Buetti-Dinh, A; Riva Scettrini, P; Petrini, L; Tonolla, M; Petrini, O. 2023. Fungal communities on alpine cheese rinds in Southern Switzerland. *Botanical Studies* 64(1):6. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40529-023-00371-2>.

Rodriguez, P; Borrás, M; Corredor, G. 2004. Microbiological quality of fresh artisanal cheeses sold at marketplaces in Tunja, Colombia | Request PDF (en línea, sitio web). Consultado 6 may 2025. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/317772537_Microbiological_quality_of_fresh_artisanal_cheeses_sold_at_marketplaces_in_Tunja_Colombia.

Ropars, J; Didiot, E; Vega, RCR de la; Bennetot, B; Coton, M; Poirier, E; Coton, E; Snirc, A; Prieur, SL; Giraud, T. 2020. Domestication of the Emblematic White Cheese-Making Fungus *Penicillium camemberti* and Its Diversification into Two Varieties. *Current Biology* 30(22):4441-4453.e4. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.08.082>.

Ruíz Pérez, RA; Menco Morales, NY; Chams Chams, LM. 2017. Valoración microbiológica de queso costeño artesanal y evaluación higiénico-locativa de expendios en Córdoba, Colombia. *Revista de Salud Pública* 19(3):311-317. DOI: <https://doi.org/10.15446/rsap.v19n3.54853>.

SAG. 2021. Presentan análisis de la ganadería de leche y carne de Honduras – UCI SAG | SALA DE PRENSA (en línea, sitio web). Consultado 4 may 2025. Disponible en <https://www.prensa.sag.gob.hn/2023/07/21/presentan-analisis-de-la-ganaderia-de-leche-y-carne-de-honduras/>.

Samson, R. 2002. Introduction to food and airborne fungi (en línea). American Society Microbiology . Consultado 31 oct. 2025. Disponible en <https://cir.nii.ac.jp/crid/1570291226404648576>.

Souza, TP; Evangelista, SR; Passamani, FRF; Bertechini, R; de Abreu, LR; Batista, LR. 2021. Mycobiota of Minas artisanal cheese: Safety and quality. *International Dairy Journal* 120:105085. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105085>.

Tarazona Díaz, M. 2018. Nutritional, microbiological and sensorial characterization of fresh cheese. *Nutricion Clinica y Dietetica Hospitalaria* 38:74-79. DOI: <https://doi.org/10.12873/383tarazona>.

Van Dongen, KCW; Linkens, AMA; Wetzels, SMW; Wouters, K; Vanmierlo, T; Van De Waarenburg, MPH; Scheijen, JLJM; De Vos, WM; Belzer, C; Schalkwijk, CG. 2021. Dietary advanced glycation endproducts (AGEs) increase their concentration in plasma and tissues, result in inflammation and modulate gut microbial composition in mice; evidence for reversibility. *Food Research International* 147:110547. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110547>.

Wolfe, BE; Button, JE; Santarelli, M; Dutton, RJ. 2014. Cheese Rind Communities Provide Tractable Systems for In Situ and In Vitro Studies of Microbial Diversity. *Cell* 158(2):422-433. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.05.041>.

Zelaya, L; Enrique, A. 2002. Contaminacion microbiologica del quesillo en tres sistemas de distribucion en Tegucigalpa, Honduras. .

Zheng, X; Shi, X; Wang, B. 2021. A Review on the General Cheese Processing Technology, Flavor Biochemical Pathways and the Influence of Yeasts in Cheese. *Frontiers in Microbiology* 12:703284. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.703284>.

ANEXOS

Anexo 1 Fórmulas para preparación de medio

Yeast Extract Peptone Glucose (YEPG)

Medio utilizado para el crecimiento de levaduras

Glicose -----	20,0g
Peptona -----	20,0g
Extracto de Levadura -----	10,0g
Agar -----	15,0g
Agua Destilada -----	1000mL

Dichloran Rose Bengal Cloramphenicol (DRBC)

Medio utilizado para el crecimiento de hongos filamentosos

Glicose -----	10,0g
Peptona -----	5,0g
Dichloran Rosa -----	20,0g

Extracto de Malte (MA)

Medio utilizado para la caracterización de la morfología de levaduras; reactivación y crecimiento de hongos filamentosos

Extracto de Malte-----	20,0g
Agar -----	15,0g
Agua destilada-----	1000mL

MEA

Medio utilizado para hongos filamentosos

Extracto de malte-----	20,0g
Peptona-----	1,0g
Glicose-----	20,0g
Agar-----	20,0g
Agua Destilada-----	1000mL

Czapek Yeast Agar (CYA)

K ₂ HPO ₄ -----	1,0g
Czapek concentrado-----	10mL
Extrato de Levedura-----	5,0g
Sacarose-----	30,0g
Agar-----	15,0g
Agua destilada-----	1000mL
Solução metálica-----	1,0mL

Anexo 2 Etapas del análisis microbiológico

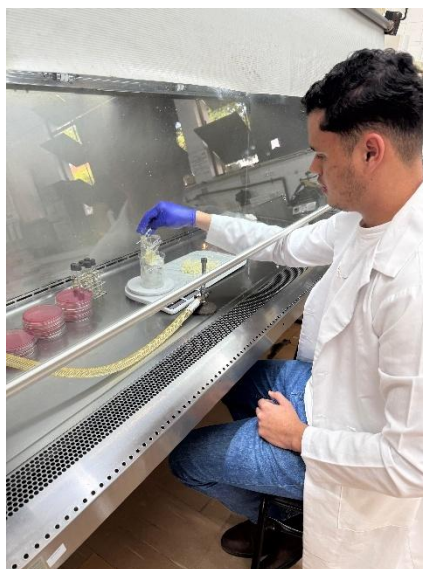


Ilustración 1 Preparación de dilución



Ilustración 2 Muestra de queso diluida



Ilustración 3 Siembra por extensión en superficie

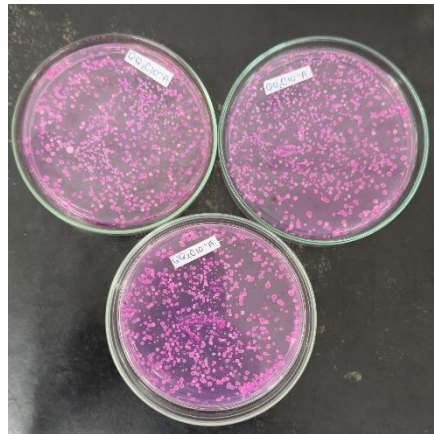


Ilustración 4 Colonias fúngicas en medio DRBC



Ilustración 5 Colonias fúngicas en medio DRBC

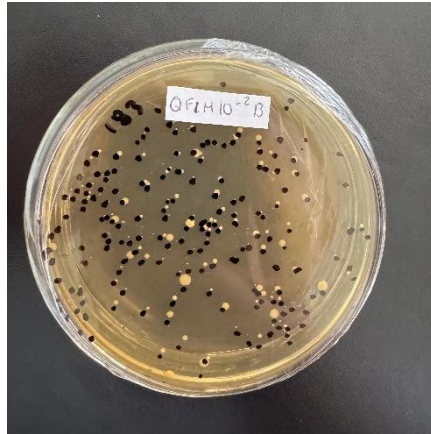


Ilustración 6 Recuento de colonias en medio YEPG

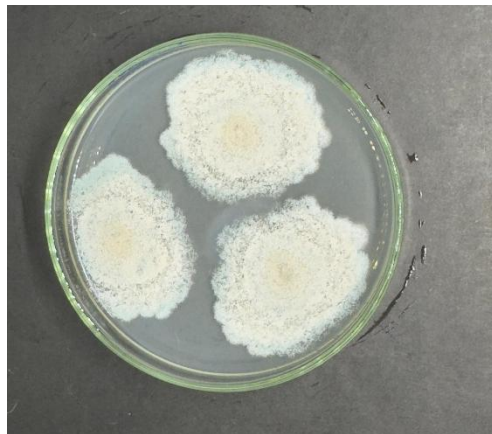


Ilustración 7 Aislamiento de hongos filamentosos

Anexo 3 Tablas de identificación de hongos aislados

Tabla 4 Aislamientos de hongos obtenidos de quesos artesanales de diferentes regiones del departamento de Olancho, Honduras.

Código	Medio	Muestra	Queso	Lugar	Dilución	Microorganismo
M04	YEPG	A1	Queso Fresco	Catacamas	10 ⁻⁴	<i>Cladosporium</i>
M05	YEPG	A1	Queso Fresco	Catacamas	10 ⁻⁴	<i>Cladosporium</i>
M06	YEPG	A1	Queso Fresco	Catacamas	10 ⁻⁴	<i>Cladosporium</i>
M07	YEPG	A1	Queso Fresco	Catacamas	10 ⁻⁴	<i>Cladosporium</i>
M12	DRBC	A1	Queso Fresco	Catacamas	10 ⁻¹	<i>Cladosporium</i>
M13	DRBC	A1	Queso Fresco	Catacamas	10 ⁻¹	<i>Cladosporium</i>
M15	DRBC	A1	Queso Fresco	Catacamas	10 ⁻¹	<i>Cladosporium</i>
M20	YEPG	C1	Queso Fresco	Culmi	10 ⁻⁵	<i>Trichothecium Roseum</i>
M21	DRBC	C1	Queso Fresco	Culmi	10 ⁻¹	<i>Cladosporium</i>
M22	DRBC	C1	Queso Fresco	Culmi	10 ⁻¹	<i>Cladosporium</i>
M24	DRBC	C1	Queso Fresco	Culmi	10 ⁻¹	<i>Aspergillus Clavatus</i>
M26	DRBC	C1	Queso Fresco	Culmi	10 ⁻¹	<i>Cladosporium</i>
M27	DRBC	C1	Queso Fresco	Culmi	10 ⁻¹	<i>Cladosporium</i>
M28	YEPG	B1	Queso Fresco	Jutiquile	10 ⁻³	<i>Cladosporium</i>
M30	YEPG	B1	Queso Fresco	Jutiquile	10 ⁻³	<i>Cladosporium</i>
M31	YEPG	B1	Queso Fresco	Jutiquile	10 ⁻³	<i>Penicillium</i>
M32	DRBC	B1	Queso Fresco	Jutiquile	10 ⁻¹	<i>Cladosporium</i>
M35	YEPG	B3	Quesillo	Jutiquile	10 ⁻³	<i>Cladosporium</i>
M36	DRBC	B3	Quesillo	Jutiquile	10 ⁻¹	<i>Penicillium</i>
M37	YEPG	B3	Quesillo	Jutiquile	10 ⁻³	<i>Cladosporium</i>
M38	DRBC	C2	Queso Semi Seco	Catacamas	10 ⁻¹	<i>Cladosporium</i>
M39	DRBC	C2	Queso Semi Seco	Catacamas	10 ⁻¹	<i>Cladosporium</i>
M49	DRBC	B2	Queso Semi Seco	Jutiquile	10 ⁻¹	<i>Penicillium</i>

Anexo 4 Ilustraciones macroscópicas de los hongos aislados

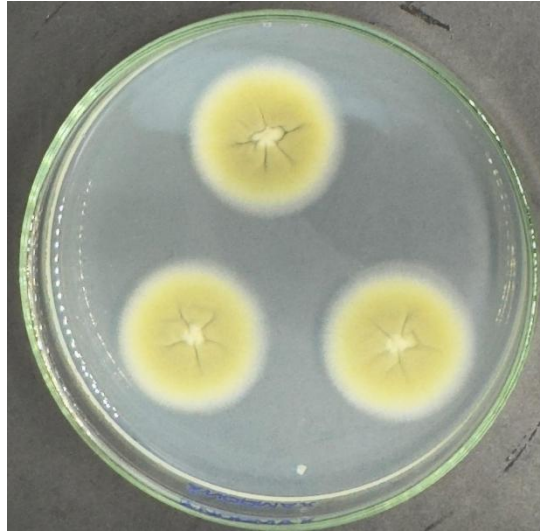


Ilustración 8 *Cladosporium*

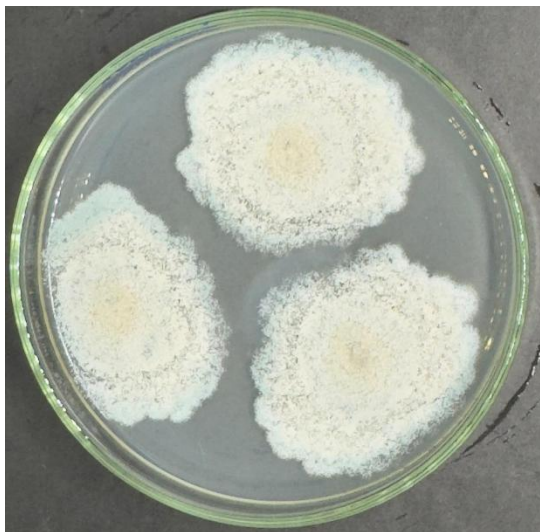


Ilustración 9 *Aspergillus Clavatus*

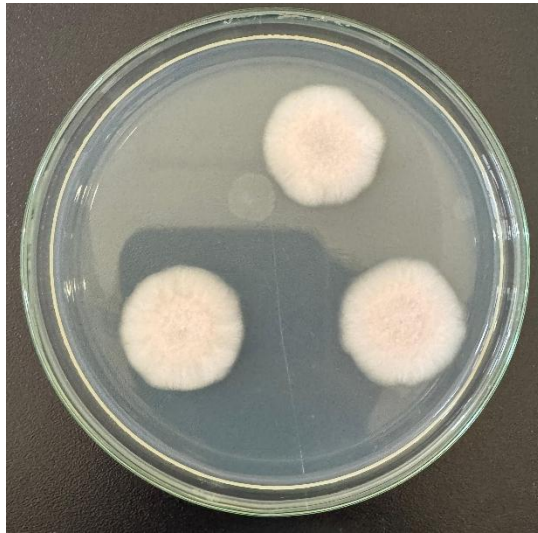


Ilustración 10 *Trichothecium Roseum*

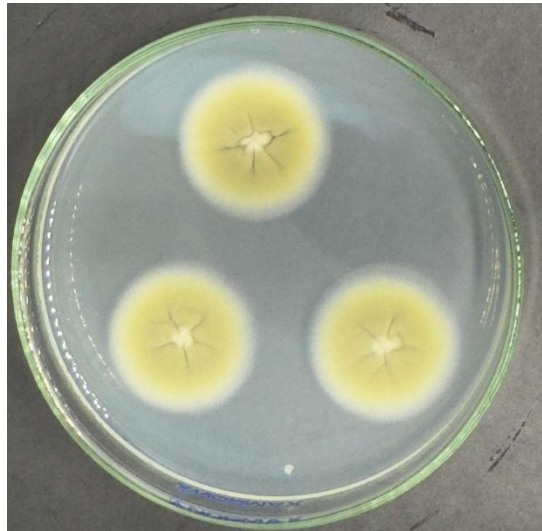


Ilustración 11 *Penicilium*

Anexo 5 Ilustraciones de las características microscópicas de los hongos aislados



Ilustración 12 *Cladosporium*



Ilustración 13 *Penicillium*



Ilustración 14 *Penicillium*

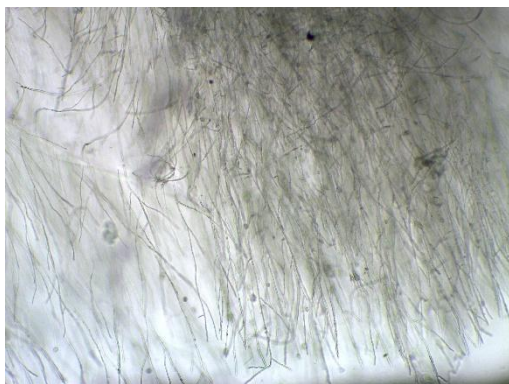


Ilustración 15 *Trichotecium Roseum*



Ilustración 16 *Aspergillus*

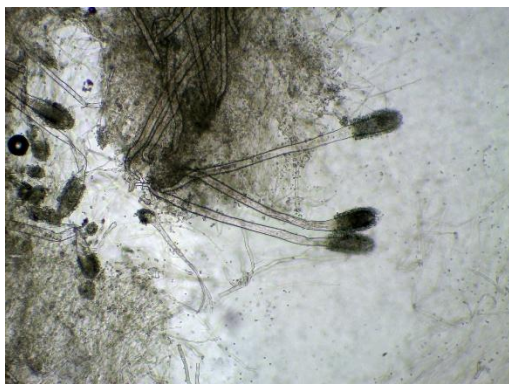


Ilustración 17 *Aspergillus*