



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

**“EFECTO DE LA NISINA COMO CONSERVANTE NATURAL EN
EL QUESO FRESCO”**

Trabajo de Titulación:

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar el grado académico de:

INGENIERA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

AUTORA:

MARIA MAGDALENA MORENO QUISHPI

Riobamba – Ecuador

2022



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

**“EFECTO DE LA NISINA COMO CONSERVANTE NATURAL EN
EL QUESO FRESCO”**

Trabajo de Titulación:

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar el grado académico de:

INGENIERA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

AUTORA: MARIA MAGDALENA MORENO QUISHPI

DIRECTOR: Ing. ENRIQUE CÉSAR VAYAS MACHADO MSc.

Riobamba – Ecuador

2022

© 2022, Maria Magdalena Moreno Quishpi

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho del Autor.

Yo, **Maria Magdalena Moreno Quishpi**, declaro que el presente Trabajo de Titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Titulación. El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 07 de Julio de 2022.



Maria Magdalena Moreno Quishpi

060520489-0

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación: Tipo: Proyecto de Investigación “**EFECTO DE LA NISINA COMO CONSERVANTE NATURAL EN EL QUESO FRESCO**”, realizado por la señorita: **MARIA MAGDALENA MORENO QUISHPI**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

| | FIRMA | FECHA |
|--|---|--------------|
| Ing. Luis Fernando Arboleda Álvarez PhD. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL |  _____ | 2022-07-07 |
| Ing. Enrique César Vayas Machado MsC. DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN |  _____ | 2022-07-07 |
| Bqf. Maria Verónica González Cabrera MsC. MIEMBRO DE TRIBUNAL |  _____ | 2022-07-07 |

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios todo poderoso, por permitirme culminar mi carrera universitaria, por darme sabiduría para elaborar este trabajo, estar siempre a mi lado en todo tiempo y guiarme en cada etapa de mi vida.

A mis queridos padres, Juan y Maria por apoyarme incondicionalmente a pesar de las dificultades, y a mis hermanos, por los consejos que me han brindado, para poder alcanzar mis metas.

Maria

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|------------------------|------|
| ÍNDICE DE TABLAS..... | x |
| INDICE DE FIGURAS..... | xi |
| RESUMEN..... | xii |
| ABSTRACT..... | xiii |
| INTRODUCCIÓN | 1 |

CAPITULO I

| | |
|---|----------|
| 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL | 3 |
| 1.1. Definición de queso | 3 |
| <i>1.1.1. Consumo de queso en Ecuador</i> | <i>3</i> |
| <i>1.1.2. Microflora del queso</i> | <i>4</i> |
| <i>1.1.3. Clasificación de queso</i> | <i>4</i> |
| 1.2. Queso fresco..... | 5 |
| <i>1.2.1. Propiedades nutricionales del queso fresco</i> | <i>5</i> |
| <i>1.2.1.1. Proteínas.....</i> | <i>5</i> |
| <i>1.2.1.2. Grasa</i> | <i>6</i> |
| <i>1.2.2. Componentes del queso fresco</i> | <i>7</i> |
| <i>1.2.2.1. Leche.....</i> | <i>7</i> |
| <i>1.2.2.2. Aditivos (optativo)</i> | <i>8</i> |
| <i>1.2.2.3. Fermento láctico (optativo).....</i> | <i>8</i> |
| <i>1.2.2.4. Cuajo</i> | <i>8</i> |
| <i>1.2.3. Proceso de elaboración de queso fresco.....</i> | <i>9</i> |
| <i>1.2.3.1. Control de calidad fisicoquímico y microbiológico a la leche.....</i> | <i>9</i> |

| | | |
|---------------|---|-----------|
| 1.2.3.2. | <i>Filtración</i> | 10 |
| 1.2.3.3. | <i>Pasteurización</i> | 11 |
| 1.2.3.4. | <i>Adición de cloruro de calcio</i> | 11 |
| 1.2.3.5. | <i>Adición de cuajo</i> | 11 |
| 1.2.3.6. | <i>Corte de la cuajada</i> | 11 |
| 1.2.3.7. | <i>Desuerado, moldeado, salado y almacenamiento</i> | 11 |
| 1.2.4. | <i>Factores que afectan la calidad del queso fresco</i> | 12 |
| 1.2.5. | <i>Requisitos microbiológicos asociados al queso fresco</i> | 12 |
| 1.2.6. | <i>Conservación del queso fresco</i> | 13 |
| 1.2.7. | <i>Principales microorganismos encontrados en el queso fresco</i> | 14 |
| 1.2.7.1. | <i>Staphylococcus aureus</i> | 15 |
| 1.2.7.2. | <i>Escherichia coli, Listeria spp, Salmonella spp</i> | 15 |
| 1.2.7.3. | <i>Clostridium perfringens</i> | 16 |
| 1.3. | <i>Bacterias ácido lácticas</i> | 16 |
| 1.3.1. | <i>Bacteriocinas</i> | 17 |
| 1.3.1.1. | <i>Usos en la industria alimentaria</i> | 17 |
| 1.3.1.2. | <i>Espectro de inhibición</i> | 18 |
| 1.3.1.3. | <i>Clasificación de las bacteriocinas</i> | 18 |
| 1.3.1.4. | <i>Potencial de las bacteriocinas en el control de patógenos y alterantes</i> | 19 |
| 1.3.1.5. | <i>Bacteriocinas producidas por Lactococcus lactis</i> | 20 |
| 1.4. | <i>Definición de Nisina</i> | 20 |
| 1.4.1. | <i>Características físicas y químicas</i> | 21 |
| 1.4.2. | <i>Utilización de la nisina como biopreservante</i> | 22 |
| 1.4.3. | <i>Modo de acción de la nisina</i> | 22 |
| 1.4.4. | <i>Solubilidad y estabilidad</i> | 23 |
| 1.4.5. | <i>Actividad frente a bacterias Gram positivas y esporuladas</i> | 23 |
| 1.4.6. | <i>Actividad frente a bacterias Gram negativas</i> | 24 |
| 1.4.7. | <i>Producción comercial de la nisina</i> | 24 |
| 1.4.8. | <i>Toxicidad de la nisina</i> | 25 |

| | | |
|--------|--|----|
| 1.4.9. | <i>Aplicaciones en la industria láctea</i> | 25 |
|--------|--|----|

CAPITULO II

| | | |
|------|---|----|
| 2. | MARCO METODOLÓGICO | 26 |
| 2.1. | Búsqueda de la bibliografía | 26 |
| 2.2. | Criterios de selección | 26 |
| 2.3. | Métodos para sistematización de la información | 27 |

CAPITULO III

| | | |
|--------|---|----|
| 3. | RESULTADOS DE INVESTIGACIONES Y DISCUSIÓN | 28 |
| 3.1. | Propiedades de la nisina como conservante natural | 28 |
| 3.1.1. | <i>Inhibe bacterias patógenas en los alimentos</i> | 28 |
| 3.1.2. | <i>Mejora las características fisicoquímicas del queso con adición de nisina</i> | 29 |
| 3.1.3. | <i>Análisis sensorial de los alimentos con adición de nisina</i> | 30 |
| 3.1.4. | <i>Incremento de tiempo de vida útil de los alimentos</i> | 30 |
| 3.1.5. | <i>Toxicidad de la nisina</i> | 31 |
| 3.2. | Principales microorganismos que alteran la calidad del queso fresco | 32 |
| 3.2.1. | <i>Enterobacterias</i> | 32 |
| 3.2.2. | <i>Staphylococcus aureus</i> | 32 |
| 3.2.3. | <i>Coliformes totales</i> | 34 |
| 3.2.4. | <i>Escherichia coli</i> | 35 |
| 3.3. | Efecto que produce la nisina sobre los microorganismos patógenos presentes en el queso fresco. | 35 |
| 3.3.1. | <i>Métodos para la determinación de cantidad de nisina</i> | 35 |
| 3.3.2. | <i>Carga microbiológica en el queso fresco por efecto de la utilización de diferentes cantidades de nisina.</i> | 36 |

| | |
|------------------------------|----|
| CONCLUSIONES | 39 |
| RECOMENDACIONES | 40 |
| BIBLIOGRAFÍA | |

ÍNDICE DE TABLAS

| | | |
|--------------------|--|----|
| Tabla 1-1 : | Propiedades nutricionales del queso fresco. | 7 |
| Tabla 2-1: | Requisitos microbiológicos y células somáticas en la leche cruda..... | 10 |
| Tabla 3-1: | Límites máximo para contaminantes en leche cruda. | 10 |
| Tabla 4-1: | Requisitos de contenido de humedad y grasa para queso fresco | 12 |
| Tabla 5-1: | Requisitos microbiológicos para queso fresco no madurado. | 13 |
| Tabla 6-1: | Dosis máxima de nisina en productos lácteos. | 14 |
| Tabla 7-1: | Clasificación de las bacteriocinas..... | 19 |
| Tabla 8-1: | Aplicación de bacteriocinas en alimentos. | 20 |
| Tabla 1-3: | Inhibición de microorganismos patógenos en alimentos..... | 28 |
| Tabla 2-3: | Características fisicoquímicas del queso con el uso de nisina..... | 29 |
| Tabla 3-3: | Incremento de tiempo de vida útil en alimentos con el uso de nisina. | 31 |
| Tabla 4-3: | Presencia de microorganismos patógenos en el queso fresco. | 33 |
| Tabla 5-3: | Métodos utilizados que determinan la cantidad de nisina óptima. | 36 |
| Tabla 6-3: | Carga microbiológica en el queso fresco por efecto de la utilización de diferentes cantidades de nisina..... | 37 |

INDICE DE FIGURAS

| | | |
|--------------------|----------------------------------|----|
| Figura 1-2: | Modo de acción de la nisina..... | 23 |
|--------------------|----------------------------------|----|

RESUMEN

El objetivo de este proyecto de investigación, fue la recopilación de información sobre el efecto de la nisina como conservante natural en el queso fresco, se desarrolló al identificar las propiedades de la nisina como conservante; describir los microorganismos que alteran la calidad del queso, e investigar el efecto de la nisina sobre los microorganismos patógenos. La metodología utilizada, se basó en la revisión de fuentes bibliográficas nacionales e internacionales en relación al uso de la nisina como conservante en los alimentos, los criterios de selección fueron, tomar las investigaciones publicadas en distintos años, para obtener una amplia información, de diferentes plataformas digitales como Google académico, ScienceDirect y repositorios digitales, hallando Artículos científicos, Trabajos de titulación y Tesis doctorales, que permitieron establecer los resultados mediante la elaboración de tablas. Las propiedades que presentó la nisina, es inhibir bacterias patógenas en el queso, con la adición de 200 mg/kg, al reducir la carga bacteriana de *Staphylococcus aureus*; mejorar las características fisicoquímicas, con el uso de 0,4% de nisina, con mayor contenido de proteína (17,77%) y sólidos totales (4,22%); en las propiedades sensoriales no existe diferencias significativas entre las muestras; y el tiempo de vida útil se extiende hasta los 12 días. La calidad del queso fresco, se ve afectada por bacterias patógenas como Enterobacterias, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y Coliformes totales, recuentos microbianos que sobrepasan lo establecido por la NTE INEN 1528:2012, y la Norma COVENIN 3821, 2003. Se concluye que la nisina es efectiva en la conservación de los alimentos, al disminuir la carga bacteriana de microorganismos patógenos, poseer mejores características fisicoquímicas, sin alterar su calidad sensorial, con mayor tiempo de vida útil y su nula toxicidad. Se recomienda el empleo de la nisina, por sus grandes beneficios como conservante en el queso fresco.

Palabras claves: <NISINA> <CONSERVANTE NATURAL> <QUESO FRESCO>
<MICROORGANISMOS PATÓGENOS>



DBRA
Ingeniero Castillo

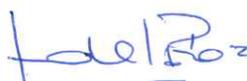
1699-DBRA-UTP-2022

ABSTRACT

The objective of this research project was to gather information on the effect of nisin as a natural preservative in fresh cheese. The properties of nisin as a preservative, the microorganisms that alter cheese quality and the effect of nisin on pathogenic microorganisms were described. The methodology used was based on the review of national and international bibliographic sources related to the use of nisin as a preservative in food. The selection criterium was the year of publication finding a wide range of information from scientific articles, degree works and doctoral theses from different digital platforms such as Google Scholar, ScienceDirect and digital repositories. The property presented by nisin is to inhibit pathogenic bacteria in cheese. With the addition of 200 mg/kg, the bacterial load of *Staphylococcus aureus* was reduced, and the physicochemical characteristics were improved with the use of 0.4% nisin. It showed a higher protein content (17.77%) and total solids (4.22%); in the sensory properties there are no significant differences between samples; and the shelf life is extended to 12 days. The quality of the fresh cheese is affected by pathogenic bacteria such as Enterobacteriaceae, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and total coliforms, microbial counts that exceed those established by NTE INEN 1528:2012 and COVENIN 3821, 2003. It is concluded that nisin is effective in food preservation, by reducing the bacterial load of pathogenic microorganisms, having better physicochemical characteristics, without altering its sensory quality, with longer shelf life and no toxicity. The use of nisin is recommended because of its great benefits as a preservative in fresh cheese.

Keywords: <NISIN> <NATURAL PRESERVATIVE> <FRESH CHEESE> <PATHOGENIC MICROORGANISMS>

1699-DBRA-UTP-2022



MsC. Gloria Isabel Escudero Orozco

CI. 0602698904

INTRODUCCIÓN

La nisina es una bacteriocina reconocida como GRAS (Generalmente reconocida como seguro) desde 1988 por la FDA (Food and drug administration), es producida por *Lactococcus lactis subsp lactis*, su principal función es inhibir el crecimiento de microorganismos Gram positivos como *Staphylococcus aureus*; es una alternativa como antimicrobiano natural en matrices alimentarias para disminuir la carga microbiana durante los procesos de elaboración (Doria y Hodeg, 2015, p. 15).

El efecto que produce la nisina en el queso es reducir la carga bacteriana de bacterias patógenos como *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Clostridium spp*, entre otros. Los alimentos frescos al ser alimentos perecederos requieren de conservadores que prevengan la contaminación microbiana, el uso de la nisina es una alternativa tecnológica como preservador en la calidad de los alimentos. (Romero, 2019, p. 13)

El uso de la nisina, una bacteriocina natural, es una alternativa para disminuir los riesgos de la elaboración de queso con leche cruda, aumentar la vida útil del producto y en consecuencia mejorar su comercialización (Sangronis y García, 2007, p. 12). Las bacteriocinas son de gran importancia en la industria alimentaria, una de las más empleadas es la nisina como conservador alimentario, mediante la purificación de las BAL o bacteriocinas. (Vallejo, 2021, p.1)

Los quesos se constituyen un vehículo de microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp* y *Listeria monocytogenes*. La fuente de contaminación más importantes en los quesos es la leche, además de las deficientes condiciones higiénicas del proceso artesanal de fabricación del queso, vuelven al producto final riesgoso para el consumidor. Por lo cual es necesario buscar alternativas que disminuyan la presencia de microorganismos patógenos y la flora responsable del deterioro del queso fresco.

La siguiente revisión bibliográfica se realiza para dar a conocer el efecto de la nisina como conservante natural en el queso fresco, al ser un producto fuente de contaminación por las condiciones en la que se almacena o al momento de su elaboración, el uso excesivo de conservantes químicos que muchas de las industrias utilizan, provocan una serie de enfermedades, la nisina es el único aditivo alimentario reconocido para su uso, generalmente ataca a microorganismos Gram Positivos y según varios estudios que se han revisado, la nisina ha dado resultados eficientes en la reducción de microorganismos patógenos.

Por lo tanto, se ha planteado los siguientes objetivos sobre la nisina como conservante natural en el queso fresco:

- Identificar las propiedades de la nisina como conservante natural.

- Describir los principales microorganismos que alteran la calidad del queso fresco.
- Investigar el efecto que produce la nisina sobre los microorganismos patógenos presentes en el queso fresco.

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Definición de queso

Según el Instituto Ecuatoriano de normalización 1528 (2012, p.2), el queso es el resultante de la coagulación enzimática y/o de la coagulación ácida de la leche, crema, suero de leche, o la mezcla de los mismos, por la adición del cuajo se drena el suero formado, respetando los principios de la elaboración del queso fresco.

De acuerdo al reglamento de técnicas sanitarias de la leche y productos lácteos, el queso, es un producto que se obtiene de la coagulación enzimática de la leche y determinados productos lácteos, con separación de al menos parte del agua, lactosa y sales minerales seguida o no de maduración. (Riofrío, 2014, p. 6)

Para Sánchez (2015, p.5), ha considerado al queso como un alimento básico que se consume desde la antigüedad y surgió de la casualidad. Al principio su elaboración se lo hacía dejando cuajar a la leche, se lo batía con una rama y se prensaba con una piedra. La masa formada se dejaba en el sol y se añadía sal. Su fabricación, ha ido cambiando con el tiempo, las diferentes técnicas artesanales permite la elaboración de diferentes tipos de quesos.

El queso es un producto obtenido mediante la coagulación enzimática de la leche y una vez añadida el cuajo se realiza la separación del suero, siendo este después madurado o no. El queso es un producto rico en nutrientes como proteínas, grasa, vitaminas y minerales, constituyéndose un alimento indispensable en la alimentación humana.

1.1.1. Consumo de queso en Ecuador

El queso es uno de los alimentos más consumidos a nivel mundial, existiendo más de 2000 tipos diferentes de este producto, el queso fresco, es uno de los más consumidos por las personas. (Ramírez y Vélez, 2012)

El consumo de lácteos en Ecuador es inferior en comparación con Latinoamérica, al poseer un consumo de un poco más de 90 litros de leche anuales. El Ecuador ha producido 36.260.925 kilos de este producto, siendo una de las variedades más producidos el queso fresco, por su bajo costo y su aporte nutricional, siendo uno de los alimentos que mayor es consumido por los ecuatorianos,

y el queso mozzarella y queso crema por tener un sabor suave, sin embargo, se está tomando también preferencia por el consumo de quesos semimaduros y maduros. (Pardillos, 2020, p. 3)

De acuerdo a la revista Líder, ocho de cada diez ecuatorianos compran queso fresco debido a su tradición y precio, seguido de queso mozzarella, queso crema, maduro, semimaduro. El queso madurado que tiene el proceso de maduración como mínimo seis meses ha ido ganando adeptos. (Revista Lideres, 2015).

1.1.2. Microflora del queso

La microflora varía en los diferentes tipos de queso incluso en quesos del mismo tipo, esta depende de la carga microbiana de la leche y de la eficacia del proceso de pasteurización, los microorganismos que pueden presentar el queso fresco son Coliformes, *Escherichia coli*, hongos y levaduras, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp*, *Lactobacillus spp* y *Listeria monocytogenes*. El deterioro de los quesos no es solo por los microorganismos presentes sino también por la composición química del alimento, entre ellas está la actividad del agua presente en el alimento, pH, acidez, el tratamiento térmico aplicado a la leche y condiciones ambientales en la conservación del queso. (Cedeño, 2015, p. 13).

La microbiota de la leche cruda que se utiliza para la elaboración de quesos artesanales tiene una riqueza muy elevada, la cual se asocia al contacto de la leche con los diferentes ambientes, expuesta antes y durante su procesamiento. Esta microbiota constituida principalmente por bacterias de Phylum Firmicutes (mayormente representado por el grupo de bacterias ácido lácticas) como Aerococcaceae, Carnobacteriaceae, Enterococcaeae, Lactobacillaceae, Leuconotoccaeae, Streptococcaeae, Actinobacteria (asociadas a quesos madurados) Bacteroidetes y proteobacteria, además de la incidencia de levaduras (los géneros *Candida*, *Debaryomyces*, *Geotrichum*, *Pichia* y *Sacharomyces*, entre otras), volviéndose una microbiota compleja y de interés biotecnológico. (Ruvalcaba, 2020, p. 29)

1.1.3. Clasificación de queso

De acuerdo a la NTE INEN 1528 (2012, p.4), clasifica al queso, por su composición y características físicas en:

Según el contenido de humedad

- a) Duro
- b) Semiduro
- c) Semiblando

- d) Blando

Según el contenido de grasa láctea

- a) Rico en grasa
- b) Entero o grasa
- c) Semidescremado o bajo en grasa
- d) Descremado o magro

1.2. Queso fresco

Es también conocido como queso blanco, aquel producto que posee una textura firme, no ha sido madurado, elaborado con leche entera, utilizando enzimas o ácidos orgánicos para coagular, sin el uso de cultivos lácticos (NTE INEN 1528, 2012, p.2).

“El queso fresco se obtiene a partir de la coagulación de la leche y deshidratación de la cuajada; se conserva por varios días, el queso es rico en proteínas, grasas, sales minerales y vitaminas; en niños y adultos favorece el crecimiento y fortalecimiento de huesos y dientes”. (FAO, 2011, p. 17)

Para Quintuña, (2017, p.14), el queso fresco es elaborado con leche sin pasteurizar (especialmente de vaca), tiene una fermentación natural y de corta madurez, una gran variedad de quesos existentes de la leche es el queso fresco, que obtiene una mayor venta y comercialización, se caracteriza por su consumo en la alimentación diaria y de su aporte de nutrientes para la salud del consumidor.

1.2.1. Propiedades nutricionales del queso fresco

La leche al ser un alimento completo, y al utilizarlo en la elaboración del queso posee un gran valor nutricional, sin embargo, este valor nutricional varía de acuerdo al tipo de queso, en el mercado ahora existen quesos enriquecidos con calcio, vitaminas y una gran cantidad de sustancias químicas que pueden aumentar su valor nutricional por lo que influye en su precio. El consumo de queso permite tener huesos fuertes, dientes sanos. (Haro, 2016, p. 12)

El queso posee casi las mismas propiedades nutricionales que la leche, solo difiere en que contiene mayor contenido graso y proteínas concentradas. Además de ser fuente proteica con alto valor biológico, se destaca por proporcionar una buena fuente de calcio y fósforo, que son necesarios para la re mineralización ósea. (Pérez, 2016, p. 18)

1.2.1.1. Proteínas

El queso posee entre el 10 al 30 % de proteína, dependiendo del método de manufactura ya sea quesos duros o blandos, la digestibilidad que tiene la proteína del queso es el 95% similar

al huevo o de algunos productos cárnicos. El contenido de aminoácidos esenciales en el queso, lo muestran como un producto de alto valor biológico. (Estrella, 2013, p. 3)

1.2.1.2. Grasa

El contenido de materia grasa varía de acuerdo al tipo de queso, depende de la composición de leche empleada. (López Guzmán, 2010, p. 25)

1.2.1.3. Calcio

En el queso fresco se encuentra un alto contenido de este micronutriente al ser un producto lácteo; este tipo de mineral aporta muchos beneficios para los huesos. Es necesario una alimentación rica en calcio en cualquier etapa de la edad que se encuentre ya sea en la infancia o longevidad. (Pachar, 2020, p. 18)

1.2.1.4. Potasio

La mayoría de quesos tiene un alto contenido de potasio en relación a otros alimentos. El potasio permite conseguir energía durante el desarrollo humano.

1.2.1.5. Fosforo

Su consumo aporta pocas calorías, por lo que es recomendable consumirla sin ninguna preocupación.

1.2.1.6. Vitamina A

Permite mantener fuertes las defensas, piel suave y buena salud ocular. (Quintuña, 2017, p.15)

Los quesos frescos sobresalen sobre todo por su alto contenido de proteínas (15%) y por su aporte en aminoácidos esenciales. Son ricos en minerales especialmente en calcio (100 gramos de queso aportan 185 mg. de calcio). (Quimis, 2016, p. 9)

El valor nutricional del queso depende del tipo de leche que se emplea en la elaboración y la condición de maduración que se le ofrece. A pesar de estos factores, los beneficios que aporta el queso fresco en la alimentación humana es su valor nutricional. Al tener una fuente de proteína alto valor biológico y con alto contenido de aminoácidos esenciales, posee un alto valor energético que depende de la cantidad de grasa y de ácidos grasos esenciales. Además del aporte en

cantidades apreciables de calcio que son de fácil asimilación, vitaminas esenciales, menos el ácido ascórbico. (Haro, 2016, p. 14)

En la Tabla 1-1, se observa las propiedades nutricionales de queso fresco que se encuentra en 100 gramos de producto.

Tabla 1-1 : Propiedades nutricionales del queso fresco.

| Propiedades | Valores de 100 gr. de producto |
|---------------------|---------------------------------------|
| Proteína | 15,0 |
| Hidratos de carbono | 2,45 |
| Materia grasa | 20,0 |
| calcio | 477 mgs. (59,6% C.D.R) |
| Fosforo | 292 mgs. (36,5% C.D.R) |

Fuente: (Quimis Cali, 2016)

1.2.2. Componentes del queso fresco

Los componentes para la elaboración del queso fresco constan:

1.2.2.1. Leche

La leche utilizada para elaborar queso tiene que ser pasteurizada, sin calostro, conservantes, adulterantes y neutralizantes. Se puede añadir vitamina A y D, de acuerdo a lo establecido en las normas de Buenas Prácticas de manufactura con una cantidad mínima de 2000 UI/litro y de vitamina D no menor a 400UI/litro. (Madrid, 1999) citado en (Aguirre, 2011, p. 10)

La calidad de la leche puede partir de dos grandes referentes, el composicional y lo higiénico, la calidad composicional de la leche hace referencia a las características físico químicas, es decir la cantidad de sólidos totales, proteína y grasa contenidas en cada litro de esta, siendo la unidad de medida en gramos. En cuanto a la calidad higiénica su unidad de medida es en unidades formadoras de colonia UFC, es decir bacterias por mililitro de leche. (Guzmán, 2013, p. 12)

La leche es considerada de calidad cuando el producto cumple consistentemente con las expectativas nutricionales, sanitarias y organolépticas del consumidor, sin embargo, influyen muchos factores como la genética, manejo, patológicos y fisiológicos que están estrechamente relacionadas para obtener una buena aptitud de la leche.

1.2.2.2. *Aditivos (optativo)*

El cloruro de calcio para López Benalcázar (2010, p. 13), es un compuesto químico que se añade a la leche con el fin de mejorar y estabilizar la capacidad de la leche para la formación de coágulo en el cuajo. La cantidad en la cual se debe agregar va a depender de la leche y las condiciones en la que se encuentre. La cantidad natural que existe en la leche varía mucho, dependiendo de follaje, época del año, período de lactancia, etc. La cantidad máxima que se debe usar es 0.2gr por litro de leche para queso. Demasiado calcio produce un coágulo demasiado firme y un queso muy elástico, dando un sabor a producto químico, poca cantidad de calcio, el coagulo sale muy suave y el queso muy quebradizo, es necesario agregarlo al menos 15 minutos antes de agregar el cuajo.

Es necesario agregar cloruro de calcio debido que al momento de pasteurizar la leche se ha perdido cloruro de calcio que de forma natural posee, si no se añade este aditivo tiene repercusiones en su elaboración impidiendo un cuajado efectivo. Se debe agregar cloruro de calcio disolviendo en agua, porque al estar en contacto con el agua se da una reacción química desprendiendo calor y gas, además que facilita disolverse de una manera homogénea en toda la leche.

1.2.2.3. *Fermento láctico (optativo)*

En la pasteurización se pierde las bacterias lácticas que posee la leche, por lo que se constituye necesario el uso de fermentos lácticos, estos son producidos en condiciones técnicas garantizando su calidad. La leche debe contener los fermentos lácticos necesarios para asegurar la acidificación. Estos fermentos están constituidos principalmente por *Streptococcus lactis* y *Streptococcus cremoris*, bacterias que fermentan la lactosa. Su adición es de 500 ml/100 litros de leche. Se deja actuar por un periodo de maduración de 5 a 10 minutos. Luego que el fermento láctico ha madurado adecuadamente a la leche, se agrega el cuajo y agitarlo durante 3 minutos. (González, 2002, p. 6)

1.2.2.4. *Cuajo*

Según López Benalcázar (2010, p. 13), cuajo “es una sustancia que obtiene la propiedad de coagular la caseína de la leche. El cuajo enzimático es el más utilizado en el centro de adiestramiento lechero”.

El cuajo se obtiene de los cuajares de los rumiantes, el componente que lo constituye es la quimosina pura, cuando se elabora los quesos se puede emplear fermentos lácticos para producir la coagulación de la caseína de la leche o cuajo. (Romero del Castillo y Mestres, 2004, p. 38)

Los quesos que se elaboran mediante coagulación enzimática o mixta, requieren de enzimas coagulantes. Se emplea la quimosina o renina, que se obtiene del cuarto estomago de los becerros lactantes, la demanda de cuajos ha permitido que se realice técnicas para obtenerlas de enzimas que procedan de vegetales y microorganismos. (Carranco, 2015, p. 31)

1.2.3. Proceso de elaboración de queso fresco

La elaboración de queso fresco es un proceso simple, en la cual intervienen fenómenos físicos y químicos que son muy complejos. Es un proceso de concentración, en la que se coagula la proteína de la leche como la caseína mediante la acción del cuajo u otro coagulante ácido. (Johnson y Law, 2011) citado en (Ramírez y Vélez, 2012, p. 132)

Los procesos de elaboración del queso fresco son los siguientes:

1.2.3.1. Control de calidad fisicoquímico y microbiológico a la leche

- Control de calidad fisicoquímico

La leche fresca posee una acidez titulable de 13 a 20 ml de NaOH 0,1 N/100 ml (0,12 - 0,18 % ácido láctico) debido al contenido de anhídrido carbónico, proteínas y algunos iones como fosfato, citrato, etc. La leche no contiene ácido láctico; sin embargo, por acción bacteriana la lactosa sufre un proceso de fermentación formándose ácido láctico y otros componentes que aumentan la acidez titulable. Determinar la acidez, identifica la calidad sanitaria del producto (Ojeda, 2011, p. 4). La acidez se mide por titulación y es la cantidad de hidróxido de sodio que se consume utilizando como indicador la fenolftaleína, el valor es expresado en °Dornic y en grado Soxhlet-Henkel (S.H.) (López et al., 2015, p. 4)

La prueba de ph determina la concentración de iones de hidrogeno, el PH es inversamente proporcional a la acidez expresado en °Dornic, indica que el pH óptimo de la leche está en un rango de 6,5 a 6,8. Su medición se realiza con un pH metro en una solución buffer utilizando dos soluciones, una con pH 7 para la zona neutra y otra de pH 4 para la zona ácida. (Alais, 1985) citado en (Negri, 2005, pp. 156-157)

Las pruebas de alcohol es una de las pruebas que se realiza a nivel de recepción, en las industrias como en los centros de adiestramiento lechero (CAL), se emplea con el propósito de detectar la termoestabilidad de la leche cruda. Cuando la muestra es inestable se produce la coagulación de la leche, volviéndose no apta para su industrialización. La concentración de etanol recomendada inicialmente fue de 68% v/v, la cual ha sido aumentada por las industrias hasta 78% (v/v), desde el punto de vista de la calidad higiénica y composicional no presentan problemas.(Molina et al., 2001, pp. 2,3)

La densidad normal de la leche se encuentra entre 1.027 a 1.033g/ml. Este valor ocurre por la presencia de los varios componentes de la leche diluidos o no, en el agua que constituye la leche, los cuales presentan densidades variables. De esto, la grasa es la única sustancia que presenta densidad casi igual al del agua (esta es la razón por lo que la grasa sube cuando la leche es almacenada en las perolas o tanque de enfriamiento).(González et al., 2010, p. 4)

- Control de calidad microbiológica

En la tabla 2-1 se observa los requisitos microbiológicos, y células somáticas que debe cumplir la leche cruda para ser procesada.

Tabla 2-1: Requisitos microbiológicos y células somáticas en la leche cruda.

| Requisito | Límite máximo |
|--|-----------------------|
| Recuento de microorganismos aerobios mesófilos (UFC/cm) ³ | 1,5x10 ⁶ |
| Recuento de células somáticas/ cm ³ | 7,0 x 10 ⁵ |

Fuente: (NTE INEN 9, 2012)

A continuación, se muestra en la tabla 3-1, el límite máximo de contaminantes que debe tener la leche cruda.

Tabla 3-1: Límites máximo para contaminantes en leche cruda.

| Requisito | Unidad | Límite máximo |
|------------------|---------------|----------------------|
| Plomo | mg/kg | 0,02 |
| Aflatoxinas | ug/kg | 0,5 |

Fuente: (NTE INEN 9, 2012)

1.2.3.2. Filtración

Una vez que la leche cumple con los parámetros de calidad, debe ser filtrada y almacenada a temperatura inferior a los 10°C, porque al encontrarse a esta temperatura permite la reducción del crecimiento microbiano y ácidos grasos libres (Sánchez, 2015, pp. 124, 132).

El proceso de filtración solo elimina suciedades grandes de acuerdo la permeabilidad del material manejado y no los microorganismos que pueden producir contaminación en el queso y que causan enfermedades en el ser humano. (Ruiz et al., 2018, p. 14)

1.2.3.3. Pasteurización

Es un proceso térmico que consiste en eliminar los microorganismos patógenos que se encuentran en la leche, sin que se vea afectada las propiedades físicas y químicas. (Ruiz et al., 2018, p. 14)

Se pasteuriza la leche a 73° C durante 15 segundos. Con este proceso se asegura la destrucción de todo tipo de microorganismo patógeno que pueda afectar la salud del consumidor. No es recomendado un tratamiento térmico muy elevado, ya que se ve afectado la aptitud de la leche para coagular, causando un mayor tiempo de coagulación, y un desuerado más lento (Valbuena et al., 2004).

1.2.3.4. Adición de cloruro de calcio

Una vez realizado el proceso de la pasteurización, la leche pierde gran parte de cloruro de calcio que está en la leche de forma natural. Por eso es necesario agregar cloruro de calcio con el fin de mejorar el rendimiento y tener un mayor rendimiento en la cuajada. (Becerra et al., 2015)

1.2.3.5. Adición de cuajo

El cuajo tiene una eficiencia cuando la leche tiene una temperatura de 39 y 41° C, si se halla por debajo de los 8° C o por encima de los 60° C, su actuación es nula, por lo cual es añadida a esta temperatura.

1.2.3.6. Corte de la cuajada

Luego de los 30 minutos en la que actúa el cuajo, se realiza el corte con una lira de un centímetro de separación, el tamaño del corte determina el tipo que se quiere elaborar. Al obtener un tamaño adecuado de los granos se bate para pueda permitirse la salida del suero. (Ramos, 2018, p.5)

1.2.3.7. Desuerado, moldeado, salado y almacenamiento

Se desuera eliminando una cantidad de suero de 30% del volumen inicial de la leche, el grano que queda después del desuerado, se coloca en moldes para que se prensen y tome forma, salado por 2 horas y al final ser almacenado evitando su contaminación. (Sánchez, 2015, p. 10)

1.2.4. Factores que afectan la calidad del queso fresco

La calidad del queso fresco depende del ph, este factor produce cambios en la cuajada del queso, creando una relación directamente proporcional en cuanto a la sinéresis, es decir a una mayor acidez mayor sinéresis. Una humedad excesiva en el queso afecta en el sabor y textura en el momento de la conservación. (Becerra et al, 2015, p. 110)

De acuerdo a la NTE INEN 1528 (2012, p. 5), se detalla el contenido máximo de humedad y contenido mínimo de grasa que debe tener el queso, expresadas en la tabla 4-1.

Tabla 4-1: Requisitos de contenido de humedad y grasa para queso fresco

| Tipo o clase | Humedad % máx NTE INEN 63 | Contenido de grasa en extracto seco, % m/m min NTE INEN 64 |
|---------------------|--|---|
| Semiduro | 55 | --- |
| Duro | 40 | --- |
| Semiblando | 65 | --- |
| Blando | 80 | --- |
| Rico en grasa | --- | 60 |
| Entero o graso | ---- | 45 |
| Semidescremado | ---- | 20 |
| Descremado | ---- | 0,1 |

Fuente: (NTE INEN 1528, 2012)

Los quesos no madurados deben cumplir con lo mostrado en la tabla 4-1, establecido por la norma ecuatoriana correspondiente. En los quesos semiduros, duros, semiblando y blandos tienen un alto contenido de humedad y no hay datos sobre contenido graso, mientras que los quesos ricos en grasa, entero o graso, semidescremado y descremado lo poseen.

1.2.5. Requisitos microbiológicos asociados al queso fresco

De acuerdo a la NTE INEN 1528 (2012, p. 5), menciona “los quesos frescos no madurados deben estar ausente de microorganismos patógenos, de sus metabolitos y toxinas”. Por lo cual debe cumplir los requisitos microbiológicos establecidos en la tabla 5-1.

Tabla 5-1: Requisitos microbiológicos para queso fresco no madurado.

| Requisito | n | m | M | c | Método de ensayo |
|-------------------------------------|---|-------------------|-----------------|---|------------------|
| Enterobacteriaceas UFC/g | 5 | 2x10 ² | 10 ³ | 1 | NTE INEN 1529-13 |
| <i>Escherichia coli</i> UFC/g | 5 | <10 | 10 | 1 | AOAC 991.14 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g | 5 | 10 | 10 ² | 1 | NTE INEN 1529-14 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> /25 g | 5 | Ausencia | - | | ISO 11290-1 |
| <i>Salmonella</i> en 25 g | 5 | AUSENCIA | - | 0 | NTE INEN 1529-15 |

Fuente: (NTE INEN 1528, 2012)

Donde:

n = Número de muestras a examinar.

m = Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad.

M = Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad.

c = Número de muestras permisibles con resultados entre m y M.

Debe cumplir los requisitos establecidos por esta norma, para considerarse como un producto de calidad, revelando los niveles permisibles para Enterobacterias, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* y la ausencia en *Listeria monocytogenes* y *Salmonella*.

1.2.6. Conservación del queso fresco

En la conservación del queso fresco, los métodos utilizados son frío, calor, conservantes químicos o combinación de los mismos, otra forma de conservación es la fermentación (Abril y Pilco, 2013).

Los aditivos conservantes son sustancias que retardan o detienen procesos que pueden deteriorar el queso a su vez actúan como inhibidores del crecimiento microbiano. Su adición no hace que los alimentos conservados se vuelvan imperecederos, solo la mantienen inalterados por un periodo de tiempo limitado, retardo el crecimiento de los microorganismos, pero no inhibiendo por completo. Entre los aditivos utilizados para la conservación del queso está la nisina, sin embargo, es uno de los conservantes naturales que menos se utiliza en la industria alimentaria. (Villada, 2010, pp. 8, 37)

La Norma general del Codex para los aditivos alimentarios, reconoce a la nisina como aditivo alimentario (E 234) y establece la dosis máxima permisible de aplicación de nisina en nata (crema) cuajada (natural), quesos madurados, quesos de proteínas del suero, productos análogos al queso, postres a base de cereales y almidón, productos cárnicos tratados térmicamente y envolturas o

tripas comestibles. En productos lácteos la dosis máxima es de 12,5 mg/kg de nisina pura. (Norma Técnica Ecuatoriana -CODEX 192, 2013, p. 158)

El uso de nisina en productos lácteos, se presenta en la Tabla 6-1, con la dosis máxima permitida establecida en mg/kg.

Tabla 6-1: Dosis máxima de nisina en productos lácteos.

| Alimento | Dosis máxima (mg/kg) |
|--|-----------------------------|
| Nata (crema) cuajada (natural/simple) | 10 |
| Queso no madurado | 12,5 |
| Queso madurado | 12,5 |
| Productos análogos de queso | 12,5 |
| Queso de proteínas del suero | 12,5 |
| Postres lácteos (pudines, yogur aromatizado o con fruta) | 12,5 |

Fuente: (NTE INEN-CODEX 192, 2013)

Se encuentran mencionadas como clases funcionales sustancias conservadoras y fueron adaptadas desde el año 2006 al 2010, la dosis máxima señalada es 12,5 mg/kg en todos estos productos, solo en la nata cuajada su dosis es de 10 mg/kg.

1.2.7. Principales microorganismos encontrados en el queso fresco

El queso fresco es uno de los productos de mayor preferencia debido a su textura y sabor. Este producto es fabricado en gran parte por los pequeños agricultores y en pequeña escala las grandes industrias. Existe un sin número de informes tratados sobre la seguridad microbiológica del queso elaborado con leche cruda, siendo un tema muy controversial. Los quesos frescos son considerados inseguros microbiológicamente por la presencia de patógenos que puede presentarse en la materia prima, durante el proceso de fabricación del queso tradicional. (Merchán et al., 2018, pp. 1,6)

“La identificación de los microorganismos asociados a los brotes reportados a las entidades de salud de América Latina y EE.UU. demuestran que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.* y *Clostridium perfringens* han sido los principales agentes etiológicos implicados” (Merchán et al., 2018, p. 6)

1.2.7.1. *Staphylococcus aureus*

Este tipo de microorganismo se halla con frecuencia en la membrana de la mucosa nasal y en la ubre de las vacas. Al tener un pH ácido, elevada actividad de agua y concentración de cloruro de sodio permiten el crecimiento de organismos en el queso fresco. (Luján et al., 2004, pp. 1, 5)

Diferentes estudios muestran la prevalencia de patógenos en el queso fresco en algunos países de América Latina, en México se determinó la presencia de *Staphylococcus aureus* en un 5,76% analizadas en 12 muestras de queso fresco, ninguna de las muestras cumple con la norma mexicana establecida. (González y Franco, 2015, pp. 250, 253)

En Ecuador se analizaron 54 muestras de quesos (18 quesos artesanales, 18 quesos pasteurizados y 18 quesos mozzarella) presentando contaminación por *Staphylococcus aureus* en 30 quesos estudiados (55%), exponiendo la contaminación de este microorganismo. La aparición de este microorganismo, es debido a las condiciones higiénicas deficientes en el proceso de elaboración manejo y expendio. (Rodas et al., 2017, pp. 25, 28)

Venezuela reporta una prevalencia del 40 % en el queso blanco tipo Telita en 80 muestras analizadas y del 69,44 % en el queso blanco fresco (Márquez, 2012, pp. 112, 113).

1.2.7.2. *Escherichia coli*, *Listeria spp*, *Salmonella spp*.

Escherichia coli es un microorganismo que se encuentra en la flora intestinal del hombre y de los animales, su presencia en los alimentos indica contaminación fecal. En los EE.UU. las infecciones por queso fresco con *Escherichia coli* O157:H7 son responsables de por lo menos 20 000 casos de enfermedad y 250 muertes por año (Miszczycha et al., 2013, p. 150). En Venezuela en un estudio realizado reporta la ausencia de *Salmonella spp.*, *Shigella sp*, *Escherichia coli* O157:H7 y *Listeria monocytogenes* en las muestras de cuajada o queso artesanal (Báez-Ramírez et al., 2016, pp. 66,68). En Perú, se reporta la presencia de *Escherichia coli* con prevalencias del 28,1 % en los quesos frescos en 39 muestras de 100 g cada una de queso fresco artesanal (Cristóbal y Maurtua, 2003, pp. 158, 160).

En el estudio realizado por Baquero et al., (2006, pp. 80, 82), en Colombia se identificó la presencia de *Listeria spp*. en muestras de queso fresco artesanal de un 16,7 %, además de otros microorganismos como levaduras y bacterias en todas las muestras. Reportes en Ecuador demuestran prevalencias de 52, 94 % de *Listeria spp*. en el queso fresco muestreados en supermercados de mayor transurrencia de la ciudad de Guayaquil (Plaza Ibarra, 2013a: p. 174). Brasil identificó en el queso fresco una prevalencia de 6,7% de *Listeria monocytogenes*, resultándose inaceptable para el consumo (Abrahão et al., 2008, p. 291).

Salmonella se constituye como agente zoonótico, al ser un transmisor de microorganismos patógenos al ser humano y a los procesos que se realizan en las plantas industriales. En países como Colombia y Ecuador, la presencia de *Salmonella* spp. en los quesos fresco en un 40,7 % y 13,7 %, respectivamente (Castro et al., 2016, p. 91; Plaza, 2013, p. 174). Estudios microbiológicos realizados en Perú confirmaron la calidad del queso fresco al presentar ausencia de este microorganismo (Guzmán et al., 2015, p. 285). Venezuela reporta una prevalencia del 2% en el queso blanco tipo llanero. En los EE. UU, la presencia de *Salmonella* spp. es del 2,4 % en las muestras de queso fresco.(Gonzales et al., 2017, p. 1)

1.2.7.3. *Clostridium perfringens*

En Cuba un estudio retrospectivo de 2006 a 2010 determinó la prevalencia de microorganismos involucrados en los brotes, identificando *Escherichia coli* (25%), *Staphylococcus* spp. (19,7%) y *Clostridium perfringens* (18,4 %) como los principales causantes. (Puig et al., 2013, p. 74)

1.3. Bacterias ácido lácticas

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son microorganismos que han sido empleadas durante muchos años por la industria alimentaria, porque tienen la propiedad de conferir características sensoriales y reológicas deseables en los productos lácteos. Estas bacterias tienen la capacidad de conservar a los productos lácteos debido a diferentes metabolitos, destacándose las bacteriocinas. Las bacteriocinas posee su acción frente a diferentes patógenos y se exhiben estables a diferentes pH y temperaturas, características que hacen que las bacteriocinas tengan un potencial aplicación para la industria alimentaria, considerado por su aplicación que puede evitar la contaminación por patógenos (Heredia et al., 2017, p. 340).

Estas son sustancias peptídicas con actividad antimicrobiana producidas por diferentes cepas bacterianas (Monroy Dosta et al., 2009, p. 63), actúan formando poros en la membrana celular de las bacterias, produciéndoles la apoptosis. Las bacterias ácido lácticas (BAL) por su origen alimentario son consideradas como GRAS y por lo tanto son ideales para su uso como biopreservantes o biocontroladores microbianos (Monroy et al., 2009, p. 69).

La aplicación de las BAL en la industria alimentaria, ha permitido encontrar una gran diversidad de antagonismos microbianos; le aporta al consumidor un papel protector para mantener la microbiota intestinal, no tiene un impacto negativo en el sabor o la calidad del producto; aunque el control de microorganismos patógenos sigue siendo un desafío.(Fernández et al., 2014, p. 57)

1.3.1. Bacteriocinas

Las bacteriocinas son péptidos sintetizados por algunas de las bacterias ácido lácticas, como conservadores para inhibir el crecimiento de otros microorganismos. Las bacteriocinas se pueden utilizar como conservadores biológicos puros, que podrían constituirse como un reemplazo a los conservadores sintéticos. Presentan un amplio espectro antimicrobiano, siendo activas a bajas concentraciones (menos a 10 ppm) frente a bacterias Gram-positivas patógenas o deteriorativas de alimentos. Además se ha demostrado que dicha actividad también se extiende a bacterias Gram negativas sub-lealmente dañada por los tratamientos térmicos o por la presencia de agentes quelantes. (Beristain et al., 2012, pp. 64-66)

El uso de las bacteriocinas no se constituyen el eje principal de la seguridad sanitario y para la preservación de alimentos, sin embargo, con mayor frecuencia se han establecidos como “tecnología de obstáculos” en la prevención y seguridad de los alimentos, actúan atacando al microorganismo, reduciendo la supervivencia y producir la muerte. (Astrid, 2002, p. 18)

1.3.1.1. Usos en la industria alimentaria

Actualmente la adición de aditivos químicos suele tener efecto perjudicial para salud de las personas, por lo que los consumidores buscan alimentos más orgánicos sin la adición de estos conservantes químicos. Volviéndose la primera opción de estas industrias la adición de conservantes biológicos. Por lo que se tiene este metabolito secundario producido por las BAL, estos péptidos microbianos son capaces de lograr un alimento sin carga microbiana patógena que pueda ocasionar efectos adversos para los consumidores. (Agudelo, 2013, p. 40)

En la bioconservación de alimentos, el uso de bacteriocinas es una buena opción al representar una alternativa en la industria alimentaria, obteniendo de esta forma alimentos que no contengan aditivos artificiales, con ventajas de ser inocuos y prolongar su tiempo de vida útil, volviéndose beneficioso tanto para la industria como los consumidores. (Agudelo, 2013, p. 9)

Las bacteriocinas al ser aceptadas como una alternativa para ser un conservante, ya se utiliza en la industria, siendo aceptada como ingrediente bioactivo en polvo, como péptidos purificados o mediante cultivos lácticos que producen estas bacteriocinas. Se ha empleado en especial en la industria de lácteos, que se remonta a estudios hechos en los años 50, estas bacteriocinas son utilizadas con el fin de reducir la población de las esporas tales como las de *Clostridium tyributyricum*, entre otras, también en la inhibición de *Listeria monocytogenes*. Por lo general utilizadas en quesos madurados, cheddar, quesos frescos, en leche fresca y derivados, entre otras. (Cano López et al., 2015, pp. 13, 14)

Las bacteriocinas para Mondragón et al (2013, p. 64), se constituyen un sustituto potencial de los conservantes químicos, estos son producidas por bacterias ácido lácticas, y son consideradas como GRAS (generalmente reconocidas como seguras), que tienen un papel importante en la preservación y fermentación de alimentos.

1.3.1.2. Espectro de inhibición

La forma de inhibición de las bacteriocinas se establece de acuerdo a dos grupos que mencionados de este modo:

El espectro de inhibición de las bacteriocinas sintetizadas de Bacterias ácido lácticas, se dividen en dos grandes grupos; las que actúan sobre cepas cercanas en su taxonomía (lactococinas, lactacina, helveticina), y las que presentan un espectro de inhibición más amplio frente a muchos microorganismos (Gram positivos) incluyendo a microorganismos patógenos y alterantes de alimentos (nisina, pediocinas, lactacina). (Cano López et al., 2015, p. 14)

Estas han sido descritas generalmente para la inhibición de bacterias Gram positivas. Para inhibir bacterias Gram negativas por partes de estos péptidos sintetizados por BAL, es necesario un tratamiento previo ya sea con un agente quelante (EDTA) o por choques osmóticos, para inducir a una lesión en la pared celular, que permita el ingreso de las bacteriocinas. (Cano López et al., 2015, p. 14)

1.3.1.3. Clasificación de las bacteriocinas

Las bacteriocinas de las BAL poseen residuos de aminoácidos como arginina, lisina e histidina, que le confieren un carácter catiónico (pH neutro), además contienen residuos de alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, metionina, fenilalanina y triptófano, lo que les proporciona su naturaleza hidrofóbica; también poseen carácter anfipático. (Heredia et al., 2017, p. 341)

La clasificación de las bacteriocinas, sus característica, subcategoría y ejemplo se exhibe en la tabla 7-1.

La clase I o lantibióticos son péptidos con bajo peso molecular (<5kDa), son resistentes a elevadas temperaturas y con aminoácidos que no son comunes en su estructura como la metilantionina, dehidroxilamina y dehidrobutirina y lantionina, estos se puede encontrar de forma lineal (tipo A) como la nisina o de forma globular (tipo b) como la mersacidina.(Heredia et al., 2017, p. 341)

Tabla 7-1: Clasificación de las bacteriocinas.

| Clasificación | Características | Subcategoría | Ejemplo |
|----------------------------|---|---|----------------------------------|
| Clase I (lantibióticos) | -Péptidos que contienen aminoácidos modificados (lantionina, lantioninato). | -Tipo A (moléculas lineales). | -Nisina, subtilina, epidermina. |
| | | -Tipo B (moléculas globulares). | -Mersacidina. |
| Clase II | -Clase heterogénea de péptidos termoestables pequeños. | -Subclase IIa (pediciona- antilisteria) | -Pediocina, enterocina, sakacina |
| | | -Subclase IIB (compuesto de dos péptidos) | -plantaricina, lacticina F |
| | | - Subclase IIc (otras bacteriocinas) | -Lactococcina |
| | | - Subclase IId | -Lacticina Q. |
| | | - Subclase IIe | -Propionicina F. |
| Clase III | -Péptidos grandes termolábiles. | | -Helveticina J, millericina B. |
| Clase IV | -Péptidos cíclicos. | | -Reutiricina 6. |
| Clase V | -Péptidos de estructura circular. | | -Enterocina AS-48, gasericina A. |

Fuente: (Heredia et al., 2017).

1.3.1.4. Potencial de las bacteriocinas en el control de patógenos y alterantes

La leche de vaca podría actuar como vehículo de bacterias patógenas, la leche sin pasteurizar se ha considerado con beneficios para la salud, pero se pierde con el calentamiento del mismo. Es necesario que la leche sea pasteurizada previo a la elaboración de productos lácteos o su consumo, debido a que este proceso reduce la carga microbiana causante del deterioro, pero no esteriliza el producto. Se siguen elaborando mediante la utilización de fermentos lácticos algunos alimentos tradicionales, lo que sigue en discusión sobre el beneficio del consumo de leche pasteurizada con la leche sin pasteurizar. (Claeys et al., 2013, p. 251)

Las bacteriocinas han sido consideradas como una buena opción para mejorar la inocuidad de la leche y de los productos lácteos, en especial para aquellos productos que se utiliza leche sin pasteurizar, además de ofrecer ventajas como la rapidez para la maduración de quesos. (Grande et al., 2017, p. 193)

La utilización de recubrimientos de polietileno que contienen nisina para el envasado de la leche, el uso de una película de polietileno de baja densidad recubierta con nisina retrasó el crecimiento de una cepa indicadora de *Micrococcus luteus* en leche pasteurizada y UHT.

1.3.1.5. Bacteriocinas producidas por *Lactococcus lactis*

En el grupo de las BAL, *Lactococcus lactis* es de gran relevancia debido a la actuación en los procesos de fermentación en la industria láctea. Su papel esencial en la acidificación de la leche, contribuye a la formación del sabor en los quesos mediante la producción de péptidos y aminoácidos, evita el crecimiento de bacterias patógenas y permite crear las condiciones óptimas para la maduración. Por lo cual se ha constituido como cultivo iniciador para la producción de quesos y leches fermentadas. Este microorganismo es capaz de producir bacteriocinas del tipo lantibióticos y no lantibióticos, en la cual se encuentra la nisina que es un lantibiótico que contiene 34 aminoácidos, es uno de los más estudiados, se hallan cinco variantes como la nisina A que es la primera que fue descubierta, Z, Q, U y F, estas se diferencian en los cambios en la cadena de aminoácidos que pueden interferir en su actividad antimicrobiana. La nisina es considerada como un conservante de alimento seguro por la Unión Europea (E234), y también es aprobada por la OMS y la FDA, siendo utilizado en más de 50 países. (Pisano et., 2014) citado en (Cano López et al., 2015, p. 17)

A continuación, en la tabla 8-1, se observa la aplicación de bacteriocina en alimentos.

Tabla 8-1: Aplicación de bacteriocinas en alimentos.

| Bacteriocina | Productor | Actividad | Alimento | Reducción (log UFC/g) |
|--------------|---------------------|-------------------------|------------|-----------------------|
| Nisina | <i>L. lactis</i> | <i>B. thermosphacta</i> | Carne | 3,5 |
| Nisina | <i>L. lactis</i> | <i>L. monocytogenes</i> | Leche | 6 |
| Pediocina | <i>L. plantarum</i> | <i>L. monocytogenes</i> | Queso | 1-2 |
| Enterocina | <i>E. faecalis</i> | <i>L. monocytogenes</i> | Leche | 2 |
| Enterocina | <i>E. faecium</i> | <i>S. aureus</i> | Salchichas | 5,3 |
| Nisina Z | <i>L. lactis</i> | <i>S. aureus</i> | Queso | 2 |

Fuente: (Balciunas et al., 2013)

1.4. Definición de Nisina

Para Cano Serna et al., (2015, p. 52), la nisina es un conservante natural de mayor potencial utilizado en matrices alimentarias, siendo un péptido antimicrobiano producido por cepas de *Lactococcus lactis*. La nisina ha sido considerada como la única bacteriocina aprobada por la Organización Mundial de la Salud para ser utilizada como conservante en la industria alimentaria. Ha surgido

la necesidad del uso de bacteriocinas como la nisina porque aseguran alimentos más frescos y seguros, sin la utilización de aditivos químicos, además se requiere de un estricto control de calidad sanitaria que debe existir en las industrias.

Desde 1951, la nisina juega un papel importante para la conservación de los alimentos, siendo aprobada por la OMS, utilizada como conservante en la industria alimentaria, y la FDA (Agencia de Alimentos y Medicamentos) le confirió el estatus de sustancia GRAS (Generally Regarded As Safe) al poseer propiedades antibacterianas, debido a sus cambios mínimos en las propiedades organolépticas de los alimentos ya que desde el punto de vista del consumo humano las enzimas digestivas pueden degradarla, no formando compuestos secundarios peligrosos. (Gómez et al., 2013, p. 256)

Su síntesis es compleja, requiere de procesos de transcripción, traducción, modificaciones post-traduccionales, secreción, procesamiento, y señales de transducción. Se conocen dos variantes de esta bacteriocina, la Nisina A y la Nisina Z, que muestran diferencias en el aminoácido de la posición 27, la histidina en la Nisina A cambia por Asparagina en la Nisina Z (González et al., 2003, p.4).

1.4.1. Características físicas y químicas

La nisina es un péptido de 34 aminoácidos, conociendo seis variantes naturales: A, B, C, D, E y Z. No todas las variantes presentan la misma actividad antibacteriana. Puede encontrarse formando dímeros y tetrámeros.

La nisina es ácida y tiene mayor estabilidad en estas condiciones, las soluciones que se encuentren en pH 2 son estables durante el almacenamiento entre 2-7 °C y soporta el calentamiento hasta 121 °C sin perder su actividad. Al hallarse en condiciones alcalinas estas pierden actividad y se destruye en 30 min. a 63 °C y pH 11. En alimentos procesados al emplearse la nisina pierde actividad debido al proceso de calentamiento. La cantidad de nisina que se utiliza en la conservación de los alimentos es totalmente soluble en agua pero no es soluble en disolventes no polares (Sánchez et al., 2019, p. 166).

Su actividad antimicrobiana depende de la solubilidad acuosa, la estabilidad estructural y de su pH, siendo la nisina más soluble y más estable bajo condiciones ácidas, una solubilidad del 12% y pH 5. La solubilidad es cercana a cero cuando el pH alcanza y supera la neutralidad, lo mismo ocurre con la actividad antimicrobiana actúa cuando el pH es ácido y decrece su actividad cuando esta va en aumento; además de su estabilidad a bajas temperaturas, sin embargo, pierde actividad cuando se calienta por largos periodos de tiempo. (Gharsallaoui et al., 2016, p.33) citado en (Estrada, 2021)

Para Suárez (1997, p. 68), la nisina al encontrarse de forma natural en diferentes alimentos como leche, cárnicos, lácteos y vegetales, y que al ser consumido por animales o personas, muestra ser un indicativo de su poca o nula toxicidad, es inactivada por la acción enzimática digestiva y no produce reacciones de sensibilización ni de aparición de resistencias cruzadas en microorganismos que puedan afectar al uso terapéutico de otros antibióticos.

Ejerce su acción antibacteriana frente a microorganismos Gram positivos y esporas. Dentro de una misma especie sensible a la nisina aparecen cepas que muestran resistencia o diferencias en la sensibilidad, e incluso en una cepa sensible existen células que muestran resistencia. Los microorganismos Gram negativos y los Gram positivos resistentes pueden desarrollar sensibilidad a la nisina cuando son sometidos a tratamientos subletales (congelación, calor, ácidos, alta presión) que causan lesiones en la membrana celular. (Sánchez et al., 2019, p. 167)

1.4.2. Utilización de la nisina como biopreservante

Para Sánchez et al., (2019, p. 166), la nisina se conoce como E 234 y es un aditivo utilizada en la industria alimentaria, principalmente en la elaboración de quesos y otros alimentos como productos procesados, postres, helados, jugos de frutas, etc. Actúa como conservante en la prevención de posibles alteraciones y en la protección de diversas carnes.

Se ha utilizado en la conservación de productos cárnicos que actúa de forma favorable, sin embargo, de forma combinada con otras barreras o tratamientos puede tener mayor efectividad frente a otros microorganismos patógenos. (Grande et al., 2017, p.193)

1.4.3. Modo de acción de la nisina

La nisina ejerce su letalidad atacando a las bacterias mediante la formación de poros en la membrana citoplasmática. (Álvarez y Blanco, 2014, p. 16)

El modo de acción de la nisina se desarrolla de la siguiente forma:

Las bacteriocinas de clase I como la nisina poseen un modo de acción dual, donde la bacteriocina se une a la pared celular mediante atracciones electrostáticas en la etapa 1, posteriormente, la nisina se une al lípido II, principal transportador de las subunidades de peptidoglucano que es el principal compuesto de la pared celular, el cual lo utiliza para anclarse a la membrana celular en la etapa 2, luego la bacteriocina cambia su orientación en relación con la membrana y se inserta en la misma, y como paso final, la unión de varios péptidos en el lugar de inserción desarrollan un poro transmembranal el cual permite la salida de moléculas como los aminoácidos y ATP ocasionando la muerte celular de la bacteria (Mondragón et al., 2013).

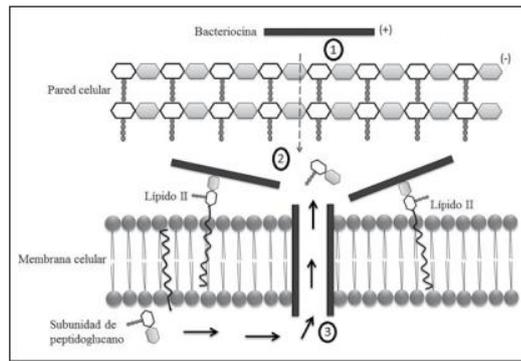


Figura 1-2. Modo de acción de la nisina.

Fuente: (Mondragón Preciado et al., 2013, p. 66)

1.4.4. Solubilidad y estabilidad

En cuanto a Astrid (2002, p. 13), la mayoría de las BAL son estables a pH neutro o ácido. La estabilidad ya sea a pH ácido o neutro indica que exista una adaptación de estas sustancias a las bacterias que la producen. La nisina presenta mayor solubilidad y estabilidad a pH 2,0, disminuyendo en la medida que aumenta el pH siendo irreversiblemente inactiva a pH 7,0 siendo su solubilidad altamente dependiente del pH de la solución y, así se reduce considerable y constantemente al aumentar el pH.

Las bacteriocinas es importante ya que además de inhibir microorganismos patógenos responsables del deterioro de los alimentos sin modificar sus características organolépticas, posee características físicas y biológicas como la estabilidad a pH neutro o ácido y su termo resistencia, que las hace de interés para reemplazar conservantes químicos o combinarlas con métodos físicos de conservación en la industria de alimentos, y así suplir la demanda actual por los alimentos naturales de los consumidores.(Agudelo, 2013, p. 57)

Los preparados comerciales no presentan pérdida de actividad durante dos años, si se encuentra almacenado en lugares secos, oscuros y a una temperatura menor a los 25°C. Sin embargo la nisina pura puede mantenerse estable por mucho más tiempo, cuando se agrega a los alimentos su estabilidad disminuye, se ha observado que en el queso fundido pasteurizado se reduce un 15% a 85-95°C en 15 minutos, o un 55-70% durante 6 meses a 30°C.(Moncada, 2009, p. 56)

1.4.5. Actividad frente a bacterias Gram positivas y esporuladas

La nisina es una bacteriocina que frena el crecimiento de microorganismos Gram positivos siendo muchas de ellas causantes de alteraciones en los alimentos (Ray, 1992) citado por (Moncada, 2009, p. 58), en los microorganismos formadores de esporos la nisina inhibe las células vegetativas como al espora.

En la revisión realizada por Cano Serna et al., (2015, p. 62), la nisina actúa como efecto antimicrobiano reduciendo la población de bacterias Gram positivas como *B. cereus*, *L. monocytogenes* y *S. aureus* en leche y derivados.

1.4.6. Actividad frente a bacterias Gram negativas

Las bacterias Gram negativas, al encontrarse protegidas por una membrana externa, evita que las bacteriocinas y cualquier otra sustancia con peso molecular mayor a 600 Da, pueda alcanzar la membrana citoplasmática, pero si se vuelven sensibles cuando se usa la bacteriocina con un agente quelante o tratamientos de conservación. (Lücke, 2000) citado por (Velasco, 2018, p.36)

El estudio que realizó Ormaza (2018, p. 38), sobre la evaluación del efecto conservante de nisina y EDTA sobre *E. coli* en queso fresco determinó que es necesario la presencia de EDTA para la acción antagónica de la nisina sobre este microorganismo, siendo efectiva al adicionar 100 mg/kg de EDTA+ 25 mg/kg.

El estudio realizado por Burbano (2018, p. 6), la nisina inhibe el crecimiento de bacterias del género de *Pseudomonas* en el queso fresco, cuando se utiliza la nisina en combinación con EDTA, al utilizarse diferentes tratamientos muestra que el mayor recuento microbiano presenta el tratamiento control, estos microorganismos afectan las cualidades organolépticas del producto, causando malos olores, textura pegajosa con aparición de pigmentos azules en su superficie volviéndose no apto para el consumo. La presencia de EDTA permite la acción inhibitoria de la nisina contra bacterias Gram negativas como *Pseudomonas*, este aditivo posee la capacidad de atrapar sales minerales necesarias para la membrana externa de estos microorganismos, volviéndolos resistentes al ataque de los conservantes como la nisina.

1.4.7. Producción comercial de la nisina

La nisina se obtiene comercialmente desde 1950, a través de una fermentación microbiana con pH controlado, mediante el uso de leche completa, desnatada o reconstituida, leche tratada con pepsina, papaína o tripsina para hidrolizar parte de sus proteínas, para evitar su contaminación se debe emplear medios estériles, además de su producción y liofilización se debe efectuar en una planta estéril. (Hall R, 1963) citado por (Moncada, 2009, p. 58)

Los estudios realizados en la Universidad Pontificia Boliviana, el suero de quesería se recomienda emplear en la producción de nisina al añadir un suplemento de caseína en una cantidad de 12-17 g/L y un ajuste en el pH de 5-5.5, mostrando que el aumento de pH puede disminuir la producción de la misma y aumento de biomasa. (Harb y Herrera, 2009) citado por (Álvarez y Blanco, 2014, p. 14)

1.4.8. Toxicidad de la nisina

Una de las ventajas que presenta la nisina hacia los otros conservantes de alimentos es que no presenta toxicidad, su estabilidad térmica a bajo ph, sin color y no tiene sabor, sin embargo, potencia el sabor, textura y el aumento en su valor nutricional en los alimentos (Dermirci. A., 2004) citado por (Álvarez y Blanco, 2014, p. 13). Para (Sierra, 2012) citado por (Doria y Hodeg, 2015, p. 2) concuerda que la nisina no muestra toxicidad, se inactiva por las enzimas del tracto digestivo, existe ausencia de color, su estabilidad al calor al tener un bajo ph y no presenta algún cambio en las características organolépticas.

1.4.9. Aplicaciones en la industria láctea

Para Heredia et al., (2017, p. 341), en las últimas décadas los estándares de calidad son más exigentes en la industria alimentaria, y en especial en los quesos que se encuentra una gran cantidad de microorganismos patógenos, muchas industrias lo elaboran con leche cruda y al ser su composición química rica en nutrientes se convierte una fuente para los microorganismos y además que son altamente manipulables.

El uso de la nisina en el queso crema, (Hernández y Contreras, 2020, p. 1,5), como agente antimicrobiano a una concentración de 12,5 mg/kg presentó mejores características organolépticas del producto, durante las condiciones de almacenamiento abusivas en las que se encuentre y a la temperatura de refrigeración en la que esté el producto mantendrá sus características sensoriales. La concentración añadida controla la proliferación de microorganismos causantes de deterioro.

CAPITULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Búsqueda de la bibliografía

El siguiente trabajo de revisión es de tipo teórico descriptivo, en donde se recopiló información obtenidas de fuente nacional e internacional de investigaciones en relación al uso de la nisina en el queso fresco. Para la obtención de información se utilizó buscadores electrónicos, mediante el uso de palabras claves: nisina, conservante natural, microorganismos patógenos, hallando Trabajos de Titulación y Artículos científicos que ayudaron en la elaboración de esta revisión.

2.2. Criterios de selección

Se tomó información de distintos años, de todos los países en cualquier idioma, encontradas en plataformas digitales como Google académico, ScienceDirect, encontrando artículos científicos, y en los Repositorios digitales, Trabajos de Titulación y Trabajos Doctorales.

Se tomó la información de los trabajos de Titulación y Trabajos Doctorales de las siguientes Universidades Nacionales e Internacionales:

Universidades Nacionales

- Universidad Nacional de Trujillo
- Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López
- Universidad Técnica de Ambato
- Universidad Técnica de Cotopaxi
- Universidad del Azuay
- Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
- Universidad Técnica Estatal de Quevedo
- Universidad de Guayaquil

Universidades Internacionales

- Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
- Universidad de Córdova
- Escuela de Ingeniería de Mauá

También se utilizó información de artículos científicos, para obtener una mayor veracidad en la investigación:

Artículos científicos

- Revista científica
- Ciencia Unemi
- Ciencia, Tecnología e Innovación en Salud
- Aquaculture International
- Veterinary Science
- Revista de Producción Animal
- Journal of Dairy Science
- Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias

2.3. Métodos para sistematización de la información

Al ser un trabajo de investigación de tipo teórico descriptivo, es necesario la recopilación de información basado en trabajos y artículos obtenidas de fuentes confiables. Para lo cual la sistematización de información se empezó formulando preguntas sobre la investigación, de acuerdo a los objetivos planteados anteriormente, tomar la información que más se asemeje con el tema a investigar y aceptar artículos que cumplan con las expectativas del tema tratado, finalmente se realiza un análisis comparativo de resultados mediante el empleo de tablas, para luego elaborar las discusiones y conclusiones respectivas.

CAPITULO III

3. RESULTADOS DE INVESTIGACIONES Y DISCUSIÓN

3.1. Propiedades de la nisina como conservante natural

3.1.1. *Inhibe bacterias patógenas en los alimentos*

La nisina actúa de forma efectiva, al inhibir bacterias patógenas en diferentes alimentos, que se especifica en la tabla 1-3.

Tabla 1-3: Inhibición de microorganismos patógenos en alimentos.

| Alimento | Microorganismos | Cantidad | Efecto inhibidor | Fuente |
|------------------------|---|------------------------|---|-----------------------|
| Queso | <i>Aerobios mesófilos</i> <i>Staphylococcus aureus</i> Coliformes | 200 mg/kg | De $6,6 \times 10^6$ a 4×10^4 UFC/g. De 90 UFC/g a Ausencia. De 1×10^5 a $1,5 \times 10^3$ UFC/g. | Castro et al., (2009) |
| Carne de res | <i>Listeria monocytogenes</i> | 1000 UI/g 1500 UI/g | De 4×10^5 a $1,7 \times 10^3$ UFC/g. De 4×10^5 a 65 UFC/g. | Cáceda, (2018) |
| Tripas para salchichas | <i>Aerobios mesófilos</i> | 200 mg/l | De $7,7 \times 10^3$ a 4×10^3 UFC/g. | De Barros, (2009) |

Realizado por: Moreno, Maria, 2022

De acuerdo a los estudios revisados, que se muestra en la tabla 1-3, la nisina posee actividad antimicrobiana en el queso fresco, carne de res, y en la hidratación de tripas para salchichas, disminuyendo la carga microbiana patógena. En la investigación de (Castro et al., 2009), el efecto biopreservador de la nisina en el queso, con el uso de 200 mg/kg, concentración de nisina determinada por técnica de difusión en agar, permitió la inhibición de bacterias aerobios mesófilos con una carga bacteriana de $6,6 \times 10^6$ a 4×10^4 UFC/g, para *Staphylococcus aureus* en la muestra testigo de 90 UFC/g a presentar Ausencia y Coliformes de 1×10^5 a $1,5 \times 10^3$ UFC/g; el mismo efecto inhibidor se presenta en la carne de res, sobre el crecimiento de *Listeria monocytogenes*, estudiada por (Cáceda, 2018), inhibe la carga bacteriana, la muestra testigo posee 4×10^5 UFC/g y con el uso de nisina a 1000 UI/g tiene una carga menor de $1,7 \times 10^3$ UFC/g, en 1500 UI/g de nisina reduce de 4×10^5 a 65 UFC/g; su uso en la hidratación de tripas embebidas en agua, estudiado por (De Barros, 2009), concentración de nisina de 200 mg/l determinada por el método de difusión en

agar permitió la reducción de su carga inicial de $7,7 \times 10^3$ a 4×10^3 UFC/g, demostrando que el uso de la nisina actúa favorablemente como agente microbiano inhibiendo su carga bacteriana.

3.1.2. Mejora las características fisicoquímicas del queso con adición de nisina

La utilización de la nisina mejora las características fisicoquímicas del queso fresco, se presenta en la tabla 2-3.

Tabla 2-3: Características fisicoquímicas del queso con el uso de nisina.

| Parámetro | Aguirre, 2011 | | | |
|-------------------|---------------|-------|-------|-------|
| | 0 | 0,4% | 0,6% | 0,8% |
| Ph | 7,06 | 7,14 | 7,21 | 7,20 |
| Grasa % | 39,21 | 30,95 | 31,74 | 36,77 |
| Proteína % | 15,15 | 17,77 | 16,52 | 14,36 |
| Solidos totales % | 5,61 | 4,22 | 4,23 | 4,13 |

Fuente: (Aguirre, 2011, p. 39)

Realizado por: Moreno, Maria, 2022

El uso de nisina en el queso fresco muestra cambios en el ph, el empleo de 0,6 y 0,8%, posee un ph mayor, mientras que la muestra testigo y el uso de 0,4% tienen un valor menor de 7,06 y 7,14, estableciendo que una cantidad menor de nisina influye en la disminución del ph. De acuerdo a (Hwang y Guinasekaran, 2001), el queso fresco posee un valor de 6,1 identificado que sobrepasa lo obtenido por el estudio revisado, muestra un ph mayor, encontrándose cerca a la neutralidad.

El contenido de grasa se ve beneficiado por la nisina, un bajo porcentaje de 0,4 y 0,6%, es efectiva en relación a la muestra sin nisina, al tener un menor contenido graso de 30,95 y 31,74%, mientras que el queso sin tratamiento y la concentración de 0,8% posee un contenido de grasa mayor; de acuerdo a lo establecido por el (CODEX 283, 1978), el queso posee un mínimo de 24% grasa, el contenido alto de este parámetro, se debe al empleo de leche y nata que se incrementan de forma considerable.

Los niveles de nisina utilizadas a 0,4 y 0,6%, incrementan el contenido proteico, seguido del queso control, mientras que niveles de 0,8% posee un porcentaje menor, estableciendo que niveles bajos de nisina incrementa el nivel nutritivo del queso fresco.

El contenido de sólidos totales tiene una mayor cantidad en la muestra testigo, seguido del queso con adición de 0,4% de nisina, en cambio, los niveles de 0,6 y 0,8% poseen un menor porcentaje, demostrando que concentraciones bajas de nisina puede incrementar este parámetro.

3.1.3. Análisis sensorial de los alimentos con adición de nisina

La nisina actúa como conservante, al no alterar sus características organolépticas, en los siguientes productos. En el estudio de (Araújo et al., 2016), al evaluar la calidad organoléptica de queso fresco con adición de nisina a 5 mg/kg, mediante prueba de preferencia ordenación con un panel de 80 catadores no entrenados, la prueba de Friedman establece que no hay diferencias en relación a la muestra control, mientras que la aplicación de nisina en el salami, para (Alcívar y Espinoza, 2018), al adicionar 0,5 g/kg, las propiedades sensoriales evaluadas mediante pruebas de preferencia-ordenación con un panel conformado por 75 jueces no entrenados y determinados por Prueba de Friedman hay diferencias significativas aseverando que la muestra con nisina posee mayor aceptación entre las muestras empleadas, y el uso de nisina en leche fluida, para (Sarmiento, 2007), las propiedades sensoriales evaluadas, mediante prueba triangular con 35 panelistas entrenados, la adición de 50 y 150 ppm, no presenta diferencia en relación a la muestra testigo, afirmando que la nisina no causa ningún efecto adverso como conservante.

3.1.4. Incremento de tiempo de vida útil de los alimentos

El uso de la nisina como conservante, incrementa su tiempo de vida útil en el queso fresco, filetes de pescado, helado y crema pastelera en relación a la muestra sin nisina, detalladas en tabla 3-3.

La nisina permite el incremento de su vida útil en el queso fresco según (López, 2010), en concentraciones de 0.5g nisina/Kg, mediante el conteo microbiano de Coliformes totales, determinó un aumento de 4 días más con una carga bacteriana de $9,3 \times 10^5$ UFC/g, que la muestra que no fue añadida nisina ($2,0 \times 10^6$ UFC/g). Para (Ucar et al., 2020), el empleo de nisina con 0,8%, en filetes de pescado, sumergido durante 10 minutos en solución de nisina, almacenados durante 8 días, tienen una menor carga bacteriana en *aerobios psicrófilos* de 10^7 UFC/g, mientras que la muestra control tiene un mayor incremento bacteriano a los 6 días de almacenamiento de 10^8 UFC/g, estableciendo de esta forma un mayor tiempo de vida útil. El uso de la nisina en la conservación del helado, estudiado por (Romero y Héctor, 2016), concentración de 50 ppm a los 90 días de almacenamiento, el recuento de Bacterias aerobias mesófilas es menor con 200 UFC/g que la muestra testigo (2200 UFC/g). En el estudio de (Guamán, 2016, p.16), el uso de nisina en crema pastelera con una concentración de 0,125 g, concentración determinada por prueba de sensibilidad, la carga microbiana de *Bacillus cereus*, reduce su carga a los 10 días de almacenamiento de 200 UFC/g, y sin la utilización de este conservante contiene 300000 UFC/g

al día 0, mostrando que la nisina actúa disminuyendo su carga inicial, incrementando su tiempo de vida útil.

Tabla 3-3: Incremento de tiempo de vida útil en alimentos con el uso de nisina.

| Alimento | Cantidad de nisina | Vida útil (días) | Microorganismo | Carga bacteriana (UFC/g) | Autor |
|--------------------|--------------------|------------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------|
| Queso fresco | 0.5g/Kg | 12 | Coliformes totales | 9,3x10 ⁵ | López, (2010) |
| | 0 | 8 | | 2,0x10 ⁶ | |
| Filetes de pescado | 0,8% | 8 | <i>Aerobios</i> | 10 ⁷ | Ucar et al., (2020) |
| | 0 | 6 | <i>psicrófilos</i> | 10 ⁸ | |
| Helado | 50 ppm | 90 | <i>Aerobias mesófilos</i> | 200 | Romero y Héctor, (2016) |
| | 0 | 90 | | 2200 | |
| Crema pastelera | 0,125 g | 10 | <i>Bacillus cereus</i> | 200 | Guamán, (2016) |
| | 0 | 0 | | 300000 | |

Realizado por: Moreno, Maria, 2022

3.1.5. Toxicidad de la nisina

La toxicidad de la nisina evaluado por (Reddy et al., 2011, p.6), mediante el empleo de ratas machos alimentadas con 10, 25 y 50 mg/kg/día de nisina, tratados por 13 semanas, analizando los efectos sobre la salud general, comportamientos de peso y hematología; no mostró efectos adversos en las ratas tratadas, el peso corporal de ratas al inicio del tratamiento son 147 gramos con nisina y sin su uso, ratas con peso de 148 gramos, y al final del estudio las ratas obtienen un peso de 250 gramos con tratamiento y en la muestra control su peso es de 249 gramos, observándose los pesos iguales en comparación con las ratas alimentadas sin nisina. A los 90 días de estudio fueron sacrificados cinco animales de los 6 grupos, dando como resultado similar a ratones que no se alimentó con nisina.

En el estudio realizado por (Frazer et al., 1962), sobre la toxicidad de la nisina, empleada en 90 ratas hembras y 45 ratas machos divididas en tres grupos, alimentadas con dietas a base de queso fresco sin nisina, queso fresco con nisina y queso con meganisina. La nisina fue administrada a ratas por incubación gástrica y por inyección intraperitoneal en dosis de 20, 30 y 40% de nisina, mantenidos en observación durante 7 días, luego fueron asesinados y sometidos a autopsia. No se observó

efectos nocivos ni anomalías en la autopsia, confirmando que la nisina es una sustancia de toxicidad muy baja al ser administrada por vía parenteral o por la boca.

3.2. Principales microorganismos que alteran la calidad del queso fresco

Los microorganismos frecuentes que alteran la calidad del queso fresco se exponen en la tabla 4-3, los mismos que se analizan a continuación:

3.2.1. *Enterobacterias*

En la tabla 4-3, se muestra la contaminación de esta bacteria en todos los quesos, determinadas por los cinco autores mediante placas petrifilm, encontrando altos recuentos microbianos. En el estudio de (Arteaga et al., 2021), en 156 muestras de quesos elaborados, de cuatro cantones de la provincia de Manabí, poseen una carga microbiana de $2,66 \times 10^6$ UFC/g, seguido del estudio de (Moreano, 2021, pp. 56, 57), al evaluar los quesos frescos que se expenden en el mercado de Latacunga, de 160 muestras tomados de 8 locales, tienen un recuento alto de 10^4 a 10^5 UFC/g. lo mismo ocurre en el estudio de (Arguello et al., 2015), de las 24 muestras obtenidas de las zonas rurales de Riobamba, presentan recuentos que comprenden de 10^3 a 10^5 UFC/g, para (Baque y Chugchilan, 2019, pp. 30-33), al evaluar los quesos frescos producidos en una quesera artesanal de la provincia de Chimborazo, de 72 muestras analizadas, todas se encuentran contaminación por Enterobacterias de $2,5 \times 10^4$ UFC/g. y en la investigación de (Solorzano, 2021, pp. 41, 42), determinó el contenido de Enterobacterias de 5 fincas productoras de queso fresco artesanal manaba, de 15 muestras estudiadas, solo 4 de las fincas (12 muestras) contienen recuentos de 6×10^2 a 164×10^2 UFC/g.

Todos los estudios asumen un alto recuento microbiano de Enterobacterias sobrepasando los límites establecidos por la norma NTE INEN 1528: 2012, que establece cargas de M: 10^3 UFC/g como índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad y m: 2×10^2 UFC/g como índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad, de acuerdo a los cinco estudios en mención. La aparición de estos microorganismos se debe a la falta de control en los procesos de limpieza e higiene como el lavado de manos y el empleo de desinfectantes en áreas críticas (Orozco, 2018, p. 41).

3.2.2. *Staphylococcus aureus*

La contaminación microbiana por *Staphylococcus aureus* en el queso fresco en los cinco estudios expuestos en la tabla 4-3, es notorio al encontrarse elevados recuentos microbianos, los métodos de ensayo fueron por técnica petrifilm. En el estudio de (Arteaga et al., 2021, p.8), al evaluar 156 muestras en quesos frescos artesanales de la provincia de Manabí, la bacteria *Staphylococcus*

Tabla 4-3: Presencia de microorganismos patógenos en el queso fresco.

| Microorganismos | Autores | N° muestras | Carga microbiológica (UFC/g) |
|------------------------------|----------------------------|----------------|---|
| <i>Enterobacterias</i> | | | |
| | Arteaga et al., (2021) | 156 | 2,66 x10 ⁶ |
| | Arguello et al., (2015) | 24 | 10 ³ a 10 ⁵ |
| | Moreano, (2021) | 160 | 3,0x 10 ⁴ a 2,3x10 ⁵ |
| | Solorzano, (2021) | 15 | 6x10 ² a 164x10 ² |
| | Baque y Chugchilan, (2019) | 72 | 2,5x10 ⁴ |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | | | |
| | Arteaga et al., (2021) | 156 | 1x10 ⁶ |
| | Arguello et al., (2015) | 24 | 10 ⁴ a 10 ⁶ |
| | Moreano, (2021) | 160 | 10 ⁴ a 10 ⁵ |
| | Solorzano, (2021) | 15 | 9 a 140 |
| | Baque y Chugchilan, (2019) | 72 | 1,2x10 ⁵ |
| Coliformes totales | | | |
| | Estrella, (2013) | 5 | 10 ³ a 10 ⁶ |
| | Arguello et al., (2015) | 24 | 10 ³ a 10 ⁶ |
| | Trujillo, (2016) | 21 | 24x10 ⁴ a 126x10 ⁴ |
| | Moreano, (2021) | 160 | 1,7x10 ⁴ a 1,1x10 ⁵ |
| | Baque y Chugchilan, (2019) | 72 | 1,9x10 ⁴ |
| <i>Escherichia coli</i> | | | |
| | Cedeño, (2015) | 27 | 9,5 x 10 ⁵ a 7,8 x 10 ⁶ |
| | Moreano, (2021) | 160 | 10 ³ a 10 ⁴ |
| | Montes, (2019) | 18 | 2x10 ³ a 3.5x10 ⁷ |
| | Solorzano, (2021) | 15 | 8 a 100 |
| | Baque y Chugchilan, (2019) | 72 | 1,1x10 ⁴ |

Realizado por: Moreno, Maria, 2022

aureus, tienen una carga de 1x10⁶ UFC/g, lo mismo sucede en la investigación de (Arguello et al., 2015), de las 24 muestras analizadas, se encuentra recuentos de 10⁴ a 10⁶ UFC/g, exhibiendo contaminación patógena en el queso. Para (Moreano, 2021, pp.63, 64), al estudiar la calidad microbiológica de quesos frescos producidos de forma artesanal expendidos de 8 locales del mercado de Latacunga, de las 160 muestras, revelan un recuento de 10⁴ a 10⁵ UFC/g. En la

investigación de (Solórzano, 2021, p.45), este microorganismo se halla en cinco fincas productoras de queso fresco artesanal manaba, con una carga microbiana de 9 a 140 UFC/g, de 15 muestras empleadas en su estudio. Para (Baque y Chugchilan, 2019, p. 30, 32), la calidad microbiológica de quesos frescos producidos en una quesera artesanal de la provincia de Chimborazo, de 72 muestras evaluadas, poseen una carga microbiana de $1,2 \times 10^5$ UFC/g.

Los estudios revisados muestran altos recuentos microbianos para *Staphylococcus aureus*, de acuerdo a la norma INEN 1528:2012, establece cargas de 10^2 a 10 UFC/g, manifestando que, de los cinco estudios, este microorganismo sobrepasa los límites establecidos, solo en el estudio de (Solórzano, 2021) de las cinco fincas estudiadas determina que una de ellas tiene una carga bacteriana de 9 UFC/g encontrándose en el rango que establece la norma. Este microorganismo, aparece en los quesos, al no aplicar las BPM (Buenas prácticas de manufactura) en el proceso, estas bacterias, se encuentran en el cuerpo del hombre y animales, principalmente en la faringe, boca, fosas nasales y manos que provoca que los manipuladores se constituyan en las principales fuentes de contaminación. (Ferrín, 2020, pp.41-45).

3.2.3. Coliformes totales

La presencia de Coliformes totales en el queso fresco se expresa en la tabla 4-3, los cinco estudios en revisión demuestran altos recuentos microbianos de Coliformes totales. La mayor contaminación se hallan en los estudios de (Estrella, 2013, p. 132), de 5 muestras de quesos frescos elaborados artesanalmente de las parroquias rurales del cantón Riobamba, determinadas por el método Recuento Directo en Placa de Agar VRB Bilis rojo-violeta, con una carga microbiana de 10^3 a 10^6 UFC/g. Seguido del estudio de (Arguello et al., 2015), de las 24 muestras evaluadas, determinados por el método recuento directo en placa de agar, de los quesos artesanales elaborados en zonas rurales de Riobamba (Ecuador), exhiben un recuento de 10^3 a 10^6 UFC/g. En cuanto a (Moreano, 2021, p. 59), evaluó la calidad microbiológica de quesos frescos expendidos en el mercado de Latacunga, de las 160 muestras en estudio, sometidas para su recuento en placas petrifilm, todas indican recuentos de $1,7 \times 10^4$ a $1,1 \times 10^5$ UFC/g. En el estudio de (Trujillo, 2016, pp. 58, 59) de los quesos frescos que se expenden en el mercado Santa Rosa, ciudad de Riobamba de las 21 muestras determinadas mediante placas petrifilm, contaron con carga de 24×10^4 a 126×10^4 UFC/g, con menor carga microbiana se halló en el estudio de (Baque y Chugchilan, 2019, pp. 30, 34), mediante la técnica de placas petrifilm, de 72 muestras examinadas, tiene un valor de $1,9 \times 10^4$ UFC/g.

La Norma Venezolana (COVENIN 3821, 2003, p. 6), establece que la presencia de Coliformes totales en queso fresco es 1×10^2 a 1×10^3 UFC/g, por lo tanto, las muestras de los cinco estudios tienen recuentos que sobrepasan lo indicado por esta norma. La presencia de Coliformes totales en los

quesos frescos se debe a las malas prácticas de manipulación, distribución, transporte y almacenamiento del producto y llegan a contaminarse al encontrarse las muestras expuestas al ambiente, sin ningún empaque y por falta de un sistema de refrigeración. (Holguín, 2019, p. 18)

3.2.4. *Escherichia coli*

La contaminación por *E. coli* en los quesos frescos de acuerdo a las cinco investigaciones revisadas, que se expresan en la tabla 4-3, todas las muestras tienen altos recuentos de este microorganismo. El mayor valor se halla en el estudio de (Montes, 2019, pp. 30, 31), al evaluar quesos artesanales de 6 mercados de la ciudad de Guayaquil-Ecuador, tomando tres muestras por cada mercado y una muestra de queso industrial para su comparación, estas tienen altos recuentos microbianos 2×10^3 a 3.5×10^7 UFC/g, solo las muestras de queso industrial no presentaron contaminación por *E. coli*. Seguido del estudio de (Cedeño, 2015, p. 44), evaluaron la calidad del queso fresco en diferentes lugares de procedencia y de comercialización en Quevedo, de 27 muestras analizadas, los recuentos microbianos es de $9,5 \times 10^5$ a $7,8 \times 10^6$ UFC/g. En el estudio de (Moreano, 2021, p.60), evaluó la calidad microbiológica de quesos frescos de 8 locales de comercialización con 160 muestras, los seis locales muestran recuentos microbianos de 10^3 a 10^4 UFC/g. Lo mismo ocurre con el estudio de (Baque y Chugchilan, 2019, pp. 30, 34), de 72 muestras examinadas tuvieron recuentos de $1,1 \times 10^4$ UFC/g. En un menor recuento microbiano se halló en el estudio de (Solorzano, 2021, p. 43), de cinco fincas que se estudiaron la calidad microbiológica de queso fresco artesanal Manaba, de 15 muestras, las 3 fincas presentan valores altos de contaminación, mientras que las 2 fincas poseen un bajo recuento de 8 y 10 UFC/g.

De acuerdo a los estudios revisados, la mayor parte de los quesos frescos en los cinco estudios muestran recuentos altos que comparados con la norma INEN 1528: 2012 superan el índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad (10 UFC/g) e índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad <10 UFC/g. La presencia de *Escherichia coli* evidencia la contaminación de origen fecal por la falta de higiene al momento de la elaboración o la manipulación del mismo (Vásquez, 2018. p. 48).

3.3. Efecto que produce la nisina sobre los microorganismos patógenos presentes en el queso fresco.

3.3.1. *Métodos para la determinación de cantidad de nisina*

El método empleado que determina la cantidad de nisina óptimo, que actúan sobre microorganismos patógenos, de los estudios revisados, se muestra en la tabla 5-3.

La cantidad de nisina, utilizados por los autores fueron evaluados por métodos in vitro, solo en el estudio de (López Benalcázar, 2010), estableció el contenido de la nisina por el centro de adiestramiento lechero, el efecto que produce la nisina en el queso fresco sobre la carga bacteriana, se detalla a continuación en la tabla 6-3.

Tabla 5-3: Métodos utilizados que determinan la cantidad de nisina óptima.

| Autor | Técnica que determinó la cantidad de nisina óptima | Concentraciones óptimas |
|---------------------------|---|--------------------------------|
| Doria y Hodeg, (2015) | Método in vitro Concentración mínima inhibitoria | 625 UI/kg |
| Felicio et al., (2015) | Método in vitro, a nivel de tubos de ensayo. | 400 UI/ml 500 UI/ml |
| López Benalcázar (2010) | Análisis experimental. | 400 mg/kg 500 mg/kg |
| Maldonado y Llanca (2007) | A niveles de tubo de ensayo. | 500 UI/ml |
| Álvarez et al., (2022) | Método in vitro Concentración mínima inhibitoria. | 500 UI ml 645 UI ml |

Realizado por: Moreno, Maria, 2022

La efectividad de la nisina sobre diferentes microorganismos que se hallan en el queso fresco, se presenta en la siguiente tabla, en la cual se expresa el número de muestras empleadas, el tratamiento utilizado y la carga microbiana de Staphylococcus aureus, Coliformes totales y Aerobios totales.

3.3.2. Carga microbiológica en el queso fresco por efecto de la utilización de diferentes cantidades de nisina.

El efecto que produce la nisina en el queso fresco, sobre la carga microbiana, se expresa en la tabla 6-3, que se muestra a continuación:

Tabla 6-3: Carga microbiológica en el queso fresco por efecto de la utilización de diferentes cantidades de nisina.

| Fuente | Número muestras | Cantidad de nisina | Microorganismos patógenos | | |
|----------------------------|-----------------|--------------------|-------------------------------|----------------------------|--------------------------|
| | | | Staphylococcus aureus (UFC/g) | Coliformes totales (UFC/g) | Aerobios totales (UFC/g) |
| Doria y Hodeg, (2015) | 9 | 0 | 1669 | | |
| | 9 | 625 UI/kg | 70 | | |
| Felicio et al., (2015) | 1 | 0 | 10 ⁴ | | |
| | 1 | 400 UI/ml | 10 ² | | |
| | 1 | 500 UI/ml | 10 ² | | |
| López Benalcázar, (2010) | 2 | 0 | | 1,0 x10 ⁴ | 3,05x10 ⁴ |
| | 2 | 5000 mg/kg | | 1,5 x10 ² | 2,4 x10 ² |
| Maldonado y Llanca, (2007) | 1 | 0 | 10 ² | | |
| | 1 | 500 UI/ml | 10 | | |
| Álvarez et al., (2022) | 9 | 0 | 1669 | | |
| | 9 | 625 UI/ml | 69,9 | | |

Realizado por: Moreno, Maria, 2022

Como se observa en la tabla 6-3, el efecto que ejerce la nisina como conservante natural en las muestras de queso fresco sobre *Staphylococcus aureus*, de los cinco estudios revisados, es reducir la carga microbiana, en el estudio de (Doria y Hodeg, 2015), mediante el empleo de 625 UI/kg, cantidad de nisina evaluada por método in vitro, posee un recuento de 70 UFC/g en relación a la muestra control de 1669 UFC/g, para (Felicio et al.,2015), al evaluar muestras de queso con 400 y 500 UI/ml, cantidad de nisina determinadas por método in vitro, colocadas en la leche redujeron su carga a 10² de 10⁴ UFC/g, lo mismo sucede en la investigación de (Maldonado y Llanca, 2007), el uso de nisina de 500 UI/ml concentración evaluada mediante tubos de ensayo, para luego ser colocadas en la leche permitió un bajo recuento de 10 UFC/g, y para (Álvarez, 2022), sucede el mismo efecto inhibitorio al utilizar concentraciones de nisina de 625 UI/ml, cantidad determinada por método in vitro, obteniendo una carga bacteriana de 1669 a 69,9 UFC/g, demostrando de esta forma que la nisina inhibe bacterias Gram positivas.

El uso de la nisina sobre Coliformes totales, se muestra en la tabla 6-3, para (López Benalcázar, 2010), al evaluar la aplicación de la nisina en el queso fresco, de dos muestras por cada concentración de nisina estudiada 5000 mg/kg y para la muestra control, se obtiene resultados de 1.5×10^2 y $1,0 \times 10^4$ UFC/g respectivamente, identificando que los recuentos bajos se deben al empleo de leche pasteurizada, observando de esta forma la acción de la nisina sobre este microorganismo.

La adición de nisina a 5000 mg/kg en el queso fresco, reduce la carga bacteriana de aerobios totales, en relación a la muestra sin el tratamiento con una contaminación patógena por este microorganismo de $3,05 \times 10^4$ UFC/g, mientras que las cantidades de nisina utilizadas presentan una carga menor de $2,4 \times 10^2$ UFC/g.

CONCLUSIONES

- Las propiedades que presenta la nisina en los alimentos, es la inhibición de bacterias patógenas, en el queso, disminuyendo su carga bacteriana para aerobios mesófilos, *Staphylococcus aureus* y Coliformes con adición de 200 mg/kg, en la carne de res la disminución de *Listeria monocytogenes* a 1000 y 1500 UI/g y en la hidratación de tripas para salchichas a 200 mg/l reduce la presencia de aerobios mesófilos; incrementa las características fisicoquímicas en el queso con un mayor contenido proteico y reducir la cantidad de grasa al 0,4% de nisina; en el queso y leche fluida las propiedades sensoriales no presenta diferencias significativas entre las muestras; el aumento de tiempo de vida útil en el queso se incrementa a 12 días, en filetes de pescado hasta 8 días y en el helado hasta los 90 días; y la toxicidad nula que permite el uso de este conservante.
- Los principales microorganismos que alteran la calidad del queso fresco, presentando altos recuentos microbianos son *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y Enterobacterias que sobrepasan lo indicado por la NTE INEN 1528:2012, considerándose muestras no aptas para el consumo humano, mientras que para Coliformes totales, el contenido microbiano supera lo determinado por la Norma Venezolana COVENIN 3821.
- El efecto que produce la nisina en los microorganismos patógenos que se encuentran en el queso fresco, es la inhibición de su carga microbiana en la presencia de *Staphylococcus aureus*, las muestras usadas como control poseen altos recuentos y con la adición de nisina tienen efecto inhibitor reduciendo su carga inicial. En la presencia de Coliformes totales y Aerobios totales se halla el mismo efecto inhibitor, afirmando que al incrementar la concentración de nisina es mejor su inhibición.

RECOMENDACIONES

- Utilizar la nisina a una cantidad de 500 UI/ml en la elaboración de queso fresco, porque inhibe la presencia de *Staphylococcus aureus*, que son uno de los causantes de intoxicación alimentaria.
- Emplear conservantes naturales como la nisina, y de esta forma producir alimentos seguros para el consumidor, por sus beneficios como conservante al aumentar su tiempo de vida útil, no afectar las características fisicoquímicas y propiedades sensoriales en los alimentos.
- Incentivar el uso de nisina a las fábricas artesanales que elaboran quesos, y así puedan reducirse el empleo de conservantes sintéticos.

BIBLIOGRAFÍA

ABRAHÃO, Wanda Moscalewski; et al. "Occurrence of *Listeria monocytogenes* in cheese and ice cream produced in the State of Paraná, Brazil". *Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas* [en línea], 2008, (Brazilian) 44, p. 291. [Consulta:28-05-2021]. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322008000200014

ABRIL TORRES, Andrea Fernanda; & PILCO OROZCO, Viviana Elizabeth. Calidad fisicoquímica de la leche cruda que ingresa a la ciudad de Cuenca, para su comercialización [En línea] (Tesis de grado). Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas, Carrera de Bioquímica y Farmacia, Cuenca, Ecuador. 2013. [Consulta: 21-02-2021]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/4825/1/TESIS.pdf>

AGUDELO LONDOÑO, Natalia. Estado del arte de la obtención de bacteriocinas a partir de bacterias ácido lácticas y su aplicación en la industria de alimentos [En línea] (Tesis de grado). Universidad Pontificia Bolivariana; Escuela de Ingenierías; Facultad de Ingeniería Agroindustrial; Ingeniería Agroindustrial, Medellín, Colombia, 2013. pp. 9, 40, 57. [Consulta:23-04-2021]. Disponible en: <https://repository.upb.edu.co/bitstream/handle/20.500.11912/1409/Trabajofinal.pdf?sequence=1>

AGUIRRE ERAS, C.I. Utilización de niveles de Nisina como antibiótico en la elaboración de queso fresco [En línea] (Tesis de grado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Ingeniería en Zootecnia, Riobamba, Ecuador, 2011. p. 10. [Consulta:10-01-2021]. Disponible en: <http://dspace.espech.edu.ec/bitstream/123456789/808/1/27T0173.pdf>

ALCÍVAR ALCÍVAR, Gabriel Moisés; & Y ESPINOZA ZAMBRANO, Angelica Patricia. Características microbiológicas y organolépticas del salami aplicando nisina como conservante natural [En línea] (Tesis de grado). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Carrera de Agroindustrias, Calceta, Ecuador, 2018. [Consulta:23-01-2022]. Disponible en: http://190.15.136.145/browse?type=author&sort_by=1&order=ASC&rpp=20&etal=-1&value=Mac%C3%ADas+Andrade%2C+Edison+Fabi%C3%A1n&starts_with=ALC%C3%8DVAR+ALC%C3%8DVAR

ALVAREZ, Beatriz; et al. *Efecto de la nisina en la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* y en las propiedades sensoriales del queso costeño* [en línea], 2022,

(Colombia) 13(1). [Consulta:11-07-2021]. ISSN 272-286. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-11242022000100272&script=sci_arttext&tIng=es

ÁLVAREZ GARCÍA, Leidy Viviana; & BLANCO VÁSQUEZ, Ana María. EVALUACIÓN DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN EN UN BIO-RECTOR PARA LA PRODUCCIÓN DE NISINA [En línea] (Tesis de grado). Universidad Pontificia Bolivariana, Escuela de Ingenierías, Facultad de Ingeniería química, Medellín, Colombia. 2014. pp.13, 14, 16. [Consulta:13-08-2021]. Disponible en: <https://repository.upb.edu.co/bitstream/handle/20.500.11912/2223/Evaluaci%C3%B2n%20de%20las%20condiciones%20de%20operaci%C3%B2n%20de%20un%20bio-reactor.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ARAÚJO VIDAL, Daldo; et al. Nisina: una alternativa para la bioconservación del queso costeño del Caribe colombiano. *Ciencia, Tecnología e Innovación en Salud* [en línea], 2016, (Colombia) [Consulta:11-01-2021]. Disponible en: <http://revistas.sena.edu.co/index.php/CITEISA/article/view/1104>.

ARGUELLO, Paola; et al. Calidad Microbiológica De Los Quesos Artesanales Elaborados En Zonas Rurales De Riobamba (Ecuador). *Perspectiva* [en línea], 2015, (Ecuador) 16(18), pp. 10. [Consulta:06-07-2021]. ISSN 1996-5257. Disponible en: <https://docplayer.es/75798724-Calidad-microbiologica-de-los-quesos-artesanales-elaborados-en-zonas-rurales-de-riobamba-ecuador.html>.

ARTEAGA SOLORZANO, Rudyard Antonio; et al. Calidad sanitaria de la leche y quesos artesanales elaborados en la provincia de Manabí, Ecuador. *Revista de Producción Animal* [en línea], 2021, (Ecuador) 33(3), pp.5-9. [Consulta:19-02-2022]. ISSN 2224 - 7920. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rpa/v33n3/2224-7920-rpa-33-03-54.pdf>

ASTRID DENISSE, Martin Katusic. Capacidad Antagonista Frente a *Listeria monocytogenes* de dos sustancias tipo bacteriocina utilizadas en combinación con NaCl y CO₂ [En línea] (Tesis de grado). Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Ingeniería en Alimentos, Valdivia, Chile. 2002, pp.13, 18. [Consulta:04-05-2021]. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2002/fam381c/sources/fam381c.pdf>

BÁEZ-RAMÍREZ, Estalina; et al. "QUESOS ARTESANALES VENEZOLANOS: EVALUACIÓN DE LA CALIDAD BACTERIOLÓGICA E IDENTIFICACIÓN DE

BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS COMO COMPONENTES BACTERIANOS DE INTERÉS BIOTECNOLÓGICO". *Revista científica* [en línea], 2016, (Venezuela) 26(2), p. 66, 68. [Consulta:19-03-2021]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/jatsRepo/959/95945988002/html/index.html>

BALCIUNAS, Marcos; et al. "Novel biotechnological applications of bacteriocins". *Food Control* [en línea],. 2013. 32(1). [Consulta:22-07-2021]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.025>

BAQUE LOPEZ, Evelyn Jaritza; & CHUGCHILAN VEINTIMILLA, Katina Pamela. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE QUESOS FRESCOS COMERCIALIZADOS EN UN MERCADO DE LA PROVINCIA DEL GUAYAS Y PRODUCIDOS EN UNA QUESERA ARTESANAL DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO [En línea] (Trabajo de titulación). Escuela Superior Politecnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Riobamba, Ecuador. 2019. pp. 30-34. [Consulta:21-01-2022]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/9716/1/56T00850.pdf>

BAQUERO ACUÑA, Deissy Milena; et al. "Determinación de *Listeria monocytogenes* en quesos blancos artesanales expendidos en la plaza de mercado de Cáqueza, Cundinamarca". *Nova* [en línea], 2006, (Cundinamarca) 4, p. 80, 82. [Consulta:21-03-2021]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/316946521_Determinacion_de_Listeria_monocytogenes_en_quesos_blanco_artesanales_expendidos_en_la_plaza_de_mercado_de_Caqueza_Cundinamarca/link/591a6e400f7e9b1db652a87b/download

BECERRA, Johana; et al. Efecto de la adición de CaCl₂ en leches de razas bovinas en la producción de quesos madurados pasta blanda y su incidencia en las propiedades organolépticas. *Revista Ciencia e Ingeniería* [en línea], 2015, (Venezuela) 36(2), p. 110. [Consulta:12-01-2021]. ISSN 1316-7081. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/5075/507550628005.pdf>

BERISTAIN BAUZA, S.C; et al. "Bacteriocinas : antimicrobianos naturales y su aplicación en los alimentos". *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* [en línea], 2012, (México) 2, pp. 64-66. [Consulta:04-04-2021]. Disponible en: <http://www.labamex.com/images/2012-Bacteriocinas-TSIA.pdf>

BURBANO ESCOBAR, Pablo Alejandro. Desarrollo de una metodología que evite la proliferación de bacterias del género *pseudomonas* en queso fresco [En línea] (Trabajo de

titulación). Universidad de las Américas, Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias, Ecuador. 2018. p.6. [Consulta:10-05-2021]. Disponible en: <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/8997/1/UDLA-EC-TIAG-2018-08.pdf>

CÁCEDA CABRERA, José Alberto. Efecto de la concentración de nisina sobre el crecimiento de *Listeria monocytogenes* ATCC 19114 en la carne de res cruda [En línea] (Tesis de grado). Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Académico Profesional de Microbiología y Parasitología, Trujillo, Perú. 2018. [Consulta:12/07/2021]. p. 5, 14. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/10861/C%20ceda%20Cabrera%20Jos%20a%20Alberto.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

CANO SERNA, Daniela; et al. Nisina como conservante de alimentos : revisión sistemática de la literatura. *Hechos microbiológicos* [en línea], 2015, (Colombia) 6(1-2), pp. 52, 62. [Consulta: 27-04-2021]. Disponible en: https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:-5ymBQ8Uf_4J:https://revistas.udea.edu.co/index.php/hm/article/view/335279+&cd=2&hl=es-419&ct=clnk&gl=ec

CANO LÓPEZ, Emmanuel; et al. Identificación de la actividad antimicrobiana de las bacteriocinas nisina a y nisina z extraídas de *Lactococcus lactis* en quesos frescos producidos a pequeña escala [En línea] (Tesis de grado). Universidad Libre Seccional Pereira, Facultad de Ciencias de la salud, Programa de Microbiología, Pereira, 2015. pp.13, 14, 17. [Consulta:29-04-2021]. Disponible en: <https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/16167/IDENTIFICACION%20DE%20LA%20ACTIVIDAD%20ANTIMICROBIANA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

CARRANCO ORTIZ, Luis Bolivar; & RODRIGUEZ CABASCANGO, Jorge Ruben. Incidencia del contenido de grasa de la leche de vaca, dosis del probiótico (*Lactobacillus casei* - 01) y temperatura de inoculación del cultivo en la elaboración de queso fresco [En línea] (Tesis de grado). Universidad Técnica del Norte, Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales, Carrera de Ingeniería Agroindustrial, Ibarra, Ecuador, 2015. p. 31. [Consulta:10-04-2022]. Disponible en: <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/4488/1/03%20EIA%20371%20TESIS.pdf>

CASTRO, Alexander David; et al. "DETECCIÓN DE *Listeria* spp Y *Salmonella* spp EN QUESO Y SU RELACION CON LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS" . *Revista Politécnica* [en línea], 2016, (Santander) 1(23), p. 91. [Consulta:21-03-2021]. ISSN 1900-2351.

Disponible en: <https://revistas.elpoli.edu.co/index.php/pol/article/viewFile/903/772>

CASTRO, Gustavo; et al. "Comparación del empleo de nisina y cultivos de lactococcus lactis subsp. lactis para la biopreservación de queso blanco". *Revista científica* [en línea], 2009, (Venezuela) 19(2), p.201, 205. [Consulta: 23-04-2021]. ISSN 0798-2259. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592009000200015

CEDEÑO TAPIA, Marcos Antonio. “CALIDAD DEL QUESO FRESCO EN DIFERENTES LUGARES DE PROCEDENCIAS Y LUGARES DE COMERCIALIZACIÓN EN QUEVEDO” [En línea] (Trabajo de titulación). Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Carrera de Ingeniería en Alimento, Quevedo, Los Rios, Ecuador. 2015. p. 44. [Consulta:22-01-2022]. Disponible en: <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/342/1/T-UTEQ-0012.pdf>

CODEX STAN 283. *Norma General para queso.* [En línea]. 1978, p. 4. [Consulta:10-05-2021]. Disponible en: https://www.midagri.gob.pe/portal/download/pdf/direccionesyoficinas/dgca/normatividad-lacteos/Codex_alimentarius/Norma_General_del_Codex_para_el_Queso_CODEX_STAN_A-6-1978_Rev.1-1999_Enmendado_en_2006.pdf

COVENIN 3821. Queso blanco. . [En línea]. 2003, p. 6. [Consulta:15-03-2021]. Disponible en: <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/3821-2003.pdf>

CORONADO RAMIREZ, Erika Patricia; & ESPITIA PETRO, Reynaldo. ESTUDIO DEL EFECTO DE UNA PELICULA ANTIMICROBIANA EN LA VIDA UTIL DEL QUESO COSTEÑO [En línea] (Trabajo de titulación). Universidad de Cordoba, Facultad de Ingeniería, Programa de Ingeniería de alimentos, Berastegui, Cordoba, Colombia. 2015.pp. 70, 71. [Consulta:22-01-2022]. Disponible en: <https://repositorio.unicordoba.edu.co/bitstream/handle/ucordoba/1059/Trabajo%20de%20Grado%20Erika%20Coronado%20y%20Reinaldo%20Espitia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

CLAEYS, Wendie L; et al. "Raw or heated cow milk consumption: Review of risks and benefits". *Food Control* [en línea], 2013, 31(1), p. 251. [Consulta:15-05-2021]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S095671351200535X?via%3Dihub>

CRISTÓBAL DELGADO, Ruth L;& MAURTUA TORRES, Dora J. "Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima , Perú , y la supuesta acción

bactericida de *Lactobacillus spp*" . *Panam Salud Publica* [en línea], 2003, (Perú) 14(3), pp. 158, 160. [Consulta:26-03-2021]. Disponible en: <https://www.scielosp.org/pdf/rpsp/2003.v14n3/158-164/es>

DE BARRO, Joice Regina. Aplicacao de nisina em tripa naturla para o controle de microrganismos deteriorantes em salsicha [En línea] (Maestria). Escuela de Ingeniería Mauá, Centro Universitario del Instituto Mauá de Tecnología, São Caetano do Sul. 2009. [Consulta:26-03-2022]. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/bjm/a/DRyF5nsJfwZT8zNgf77PHrg/?format=pdf&lang=en>

DORIA ESPITIA, María Alejandra. Efecto de la nisina sobre *Staphylococcus aureus* aislado en queso costeño comercializado en el municipio de montería [En línea] (Trabajo de titulación). Universidad de Córdoba, Facultad de Ingeniería, Programa de Ingeniería de alimentos, Colombia. 2015. pp. 2-15. [Consulta:26-05-2021]. Disponible en: https://repositorio.unicordoba.edu.co/bitstream/handle/ucordoba/1048/EFECTO_1.PDF?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=xvi,comercializado%20en%20el%20municipio%20de,C%3%B3rdo%20presenta%20contaminaci%C3%B3n%20por%20S.&text=Se%20concluye%20que%20la%20nisina,el%20municipio%20de%20Monter%C3%ADa-%20C%3%B3rdo%20a

ESTRADA ALARCON, Raquel Magaly; et al. Estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante de suero de leche bovina procedente de distintas zonas [En línea] (Trabajo de titulación). Universidad de las fuerzas armadas, Ecuador. 2021, p. 33. [Consulta:23-01-2022]. Disponible en: <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/25891/1/T-ESPESD-003136.pdf>

ESTRELLA FLORES, Geovanna Alexandra. “MONITOREO DE LA CALIDAD E INOCUIDAD DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE QUESO FRESCO ELABORADO ARTESANALMENTE EN LAS PARROQUIAS RURALES DEL CANTÓN RIOBAMBA” [En línea] (Trabajo de titulación). Escuela Superior Politecnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Ribamba, Ecuador. 2013. p. 13, 132. [Consulta:26-05-2021]. Disponible en: <http://dspace.espech.edu.ec/bitstream/123456789/2613/1/56t00387.pdf>

FAO, 2011. Procesos para la elaboración de productos lácteos. *Buenas prácticas en el manejo de la leche*, [En línea]. 2011. p. 17. [Consulta:26-03-2021]. Disponible en: <https://www.fao.org/3/bo954s/bo954s.pdf>

FELICIO, Bruna A. Effects of nisin on *Staphylococcus aureus* count and physicochemical properties of Minas Frescal cheese. *Journal of Dairy Science* [en línea], 2015, (Brazil) 99(5). [Consulta:13-02-2022]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030215003392>

FERNÁNDEZ VILLA, Kelly Johana; et al. "Caracterización de los metabolitos de bacterias ácido lácticas y efecto inhibidor de las bacteriocinas en microorganismos patógenos en alimentos: revisión sistemática de la literatura, 2008-2012". *Biosalud* [en línea], 2014, (Colombia) 13(1), p. 57. [Consulta:18-03-2021]. ISSN 1657-9550. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v13n1/v13n1a06.pdf>

FERRÍN MENDOZA, Yomira Margarita; et al. EVALUCIÓN DE LA PRESENCIA DE *Staphylococcus aureus* EN QUESO FRESCO ARTESANAL DEL MERCADO MUNICIPAL DEL CANTÓN JUNÍN DE LA PROVINCIA DE MANABÍ *Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de alimentos* [en línea], 2020, (Ecuador) 28(49), pp. 41-45. [Consulta:18-12-2021]. Disponible en: <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:liJRtRVTLRwJ:https://alimentos hoy.a cta.org.co/index.php/hoy/article/download/553/423+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=ec>

FRAZER, By; et al. The biological effects of food additives. *J. Sci. Food Agric* [en línea], 1962. [Consulta:18-03-2021]. Disponible en: <https://downloads.regulations.gov/FDA-1995-G-0276-0029/content.pdf>

GÓMEZ CÁRDENAS, Lorenzo; et al. "Efecto de antimicrobianos naturales sobre la estabilidad físico-química, microbiológica y sensorial de hamburguesas de res mantenidas en refrigeración". *Revista Mexicana Ciencia Pecuaria* [en línea], 2013, (México) 4(3), p. 256. [Consulta:13-04-2021]. ISSN 255-270. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcp/v4n3/v4n3a1.pdf>

GONZALES-BARRON, Ursula; et al. "Foodborne pathogens in raw milk and cheese of sheep and goat origin: a meta-analysis approach". *Current Opinion in Food Science* [en línea]. 2017, 18, p. 1. [Consulta:15-04-2021]. ISSN 221-7993. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cofs.2017.10.002>

GONZÁLEZ MARTÍNEZ, Blanca Edelia; et al. "Bacteriocinas de probióticos. *Revista Salud Pública y Nutrición*" [en línea], 2003, 4(2), p. 4. [Consulta:17-04-2021]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revsalpubnut/spn-2003/spn032g.pdf>

GONZÁLEZ CU, Gaspar de los Reyes; et al. Calidad de la leche cruda. “*Primer Foro sobre ganadería lechera de la zona alta de Veracruz*” [en línea], 2010, p. 4. [Consulta:17-08-2021] Disponible en: https://www.uv.mx/apps/agronomia/foro_lechero/Bienvenida_files/CALIDADDELALECHEC RUDA.pdf.

GONZÁLEZ MONTIEL, Lucio; & FRANCO, Melitón Jesús. "Perfil microbiológico del queso de aro consumido en la Cañada Oaxaqueña". *Brazilian Journal of Food Technology* [en línea], 2015, (México) 18(3), p. 250–253. [Consulta:16-05-2021]. ISSN 1981-6723. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.7514>

GONZÁLEZ VILLARREA, Manuel. *Tecnología para la Elaboración de Queso Blanco, Amarillo y Yogurt* [en línea] (Maestría en tecnología láctea), República de Panamá, 2002, p.6. [Consulta:20-05-2021]. Disponible en: <https://docplayer.es/4013979-Tecnologia-para-la-elaboracion-de-queso-blanco-amarillo-y-yogurt.html>

GRANDE BURGOS, Ma Jose; et al. "Bioconservación de alimentos lácteos". *Real académica de ciencias veterinarias de Andalucía Oriental* [en línea], 2017, 30(1), p. 193. [Consulta:12-05-2021]. Disponible en: <https://1library.co/document/yev61rez-bioconservacion-de-alimentos-lacteos.html>

GUAMÁN BAUTISTA, Jessica Maritza. Estudio comparativo entre la utilización de Nisina y Metabisulfito de sodio para inhibición de microorganismos en crema pastelera. [En línea] (Maestría). Universidad del Azuay, Departamento de posgrados, Gestion de calidad y seguridad alimentaria, Cuenca, Ecuador. 2016. [Consulta:26-12-2021]. Disponible en: <https://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/5468/1/11809.pdf>

GUZMÁN ESTREMADOYRO, Leonor Jesús; et al. "Evaluación de parámetros físicos, químicos y microbiológicos del queso fresco prensado producido en la región Junín, Perú". *Apuntes de Ciencia & Sociedad* [en línea], 2015, (Perú) 5(2), p. 285. [Consulta:22-04-2021]. Disponible en: <http://journals.continental.edu.pe/index.php/apuntes/article/view/336/343>

GUZMÁN FINOL, Karellys. La industria de lácteos en Valledupar : primera en la región Caribe. *Documentos de Trabajo Sobre Economía Regional y Urbana* [en línea], 2013, (Caribe) (184), p.12. [Consulta: 13/10/2021]. ISSN 1692-3715. Disponible en: https://www.banrep.gov.co/sites/default/files/publicaciones/archivos/dtser_184.pdf

HARO CARRASCO, Jessica Lorena. Análisis microbiológico de los quesos frescos comercializados en el mercado simón bolívar (San Alfonso) de la ciudad de Riobamba [En línea] (Trabajo de titulación). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Riobamba, Ecuador. 2016. pp.12, 14, 54. [Consulta:26-05-2021]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/4986/1/56T00631%20UDCTFC.pdf>

HEREDIA CASTRO, Priscilia Y; et al. "Bacteriocinas de bacterias ácido lácticas: Mecanismos de acción y actividad antimicrobiana contra patógenos en quesos". *Interciencia* [en línea], 2017, (Mexico) 42(6), pp. 340, 341. [Consulta:17-01-2021]. ISSN 0378-1844. Disponible en: <https://www.redalyc.org/jatsRepo/339/33951621002/html/index.html>

HERNÁNDEZ CONTRERAS, Alosmary Y; & CONTRERAS RUBIO, Quiliano L. Evaluación del uso de nisina en la vida útil del queso crema. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria* [en línea], 2020, (Venezuela) 5(2), pp.1,5. [Consulta:17-03-2021]. Disponible en: <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:1Jvwhj6BG0cJ:https://ojs.unipamplona.edu.co/ojsviceinves/index.php/rcyta/article/download/842/1138+&cd=2&hl=es&ct=clnk&gl=ec>.

HOLGUIN NEIRA, Junior Andrés. Calidad bacteriológica de queso fresco artesanal comercializado en mercados del distrito de Trujillo - La Libertad, Perú - 2019 [en línea] (Tesis de grado). Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología, Trujillo, Perú. 2019. p. 18. [Consulta: 13/07/2021]. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/14607/HOLGU%c3%8dN%20NEIRA%2c%20Junior%20Andr%c3%a9s.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

HWANG, C. H & GUNASEKARAN. *Measuring crumbliness of some commercial Queso Fresco-type Latin American cheeses.* *Milchwissenschaft*, 2001, 56(8), p.446. [Consulta:17-03-2022]. Disponible en: <https://eurekamag.com/research/003/496/003496056.php>

LÓPEZ BENALCÁZAR, Oscar Hernán. Aplicación de nisina para incrementar el tiempo de vida útil en queso fresco en el Centro de Adiestramiento Lechero (CAL) en el 2010 [En línea] (Tesis de grado). Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Ambato, Ecuador. 2010. p. 13. [Consulta:18-07-2021]. Disponible en: https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/5440/1/PAL_229.pdf

LÓPEZ GUZMAN, Ingrid Karina. Propiedades físico-químicas, texturales y sensoriales del queso elaborado en el municipio de Vega de Alatorre, y su relación con algunas características del queso de La Joya [En línea] (Tesis de grado). Universidad Veracruzana, Instituto de Ciencias basicas, Veracruz. 2010. p.25. [Consulta:18-07-2021]. Disponible en: <https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/46793/LopezGuzmanIngridKarina1d2.pdf?sequence=2&isAllowed=y>

LUJÁN, Daniel; et al. "Evaluación de la presencia de Staphylococcus aureus en quesos frescos artesanales en tres distritos de Lima – Perú". *Revista Salud Pública y Nutrición* [en línea], 2004, (Perú) 7(2), pp.1,5. [Consulta:26-04-2021]. Disponible en: <http://respyn.uanl.mx/index.php/respyn/article/view/166/148>

MALDONADO, Ronald; & LLANCA, Luis. Efecto de la incorporación de nisina sobre la supervivencia de Staphylococcus aureus en queso de mano. *Fac. Agron* [en línea], 2007, (Venezuela). [Consulta:23-06-2021]. Disponible en: <https://es.slideshare.net/JessicaBautista5/nisina-1>.

MÁRQUEZ RAMOS, José Gregorio. "Recuento de Staphylococcus aureus y detección de enterotoxinas estafilocócicas en queso blanco venezolano artesanal tipo telita expandido en mercados de la ciudad de Caracas". *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* [en línea], 2012, (Venezuela) 32(2). p. 112–113. [Consulta:16-05-2021]. Disponible en: <http://ve.scielo.org/pdf/rsvm/v32n2/art07.pdf>

MELLENDEZ ROMERO, Arianna. Obtención de un extracto de café adicionado con nisina [En línea] (Tesis de grado). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Bioquímica-Alimentos, Puebla, México. 2016. [Consulta:18-02-2021]. Disponible en: <https://repositorioinstitucional.buap.mx/bitstream/handle/20.500.12371/14904/304616TL.pdf?sequence=1>

MERCHÁN CASTELLANOS, Nuri Andrea; et al. "Microorganismos comúnmente reportados como causantes de enfermedades transmitidas por el queso fresco en las Américas, 2007-2016". *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. [en línea], 2018, (Colombia) 56, p. 1,6. [Consulta:25-06-2021] Disponible en: <https://docs.bvsalud.org/leisref/2018/03/290/alcohol-192-codex-unido.pdf>

MISZCZYCHA, Stéphane; et al. Behavior of Different Shiga Toxin-Producing Escherichia coli

Serotypes in Various Experimentally Contaminated Raw-Milk Cheeses. *Journal ASM.org* [en línea], 2013, 79(1), p. 150. [Consulta:26-05-2021]. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/aem.02192-12>

MOLINA, L; et al. Correlación entre la termoestabilidad y prueba de alcohol de la leche a nivel de un centro de acopio lechero. *Revista Scielo* [en línea], 2001, (Chile) 33(2), p.2-3. [Consulta:12-03-2021]. ISSN 0301-732X. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2001000200012

MONCADA ARMILLA, Angeline. Evaluación de la nisina como agente antimicrobiano en el proceso de envasado de leche UHT [En línea] (Tesis de grado). Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería. Palmira. 2009. pp. 56-58. [Consulta:27-11-2021]. Disponible en: <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/25839/amoncadaa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

MONDRAGÓN PRECIADO, Guadalupe; et al. "Bacteriocinas: características y aplicación en alimentos". *Investigación y Ciencia* [en línea], 2013, (México) 21(59), p. 64. [Consulta:09-04-2021]. ISSN 1665-4412. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/674/67430113008.pdf>

MONROY DOSTA, María del Carmen; et al. Revisión bibliográfica: Bacteriocinas producidas por bacterias probióticas. [en línea], 2009, pp. 63, 69. [Consulta:23-10-2020]. Disponible en: <http://www2.izt.uam.mx/newpage/contactos/anterior/n73ne/bacterio.pdf>

MONTES CANO, Domenica Gabriela. DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES Y *Escherichia coli* EN QUESOS ARTESANALES EXPENDIDOS EN LA CIUDAD DE GUAYAQUIL [En línea] (Trabajo de titulación). Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Naturales, Carrera de Ingeniería Ambiental, Guayaquil, Ecuador. 2019. pp. 30, 31. [Consulta:18-12-2021]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/39661/1/TESIS%20MONTES%202019.pdf>

MOREANO TERAN, Nancy Fabiola. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA EN QUESOS FRESCOS DE PRODUCCIÓN ARTESANAL EXPENDIDOS EN EL MERCADO CERRADO LATACUNGA [En línea] (Maestría). Universidad Técnica de Cotopaxi, Dirección de posgrado, Latacunga, Ecuador, 2021. pp. 56-60. [Consulta:18-12-2021]. Disponible en: <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/8182/1/MUTC-001039.pdf>

NEGRI, L.M. EL pH Y LA ACIDEZ DE LA LECHE. *Manual de referencias técnicas para el logro de la leche de calidad* [en línea], 2005, pp. 156, 157. [Consulta:23-10-2020]. Disponible en: <http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/pH-y-acidez-en-leche2.pdf>.

NTE INEN-CODEX 192:2013. *Norma general del códex para los aditivos alimentarios (mod)*. [en línea]. 2013, p. 158. Disponible en: <https://docs.bvsalud.org/leisref/2018/03/290/alcohol-192-codex-unido.pdf>

NTE INEN 9:2012. *Leche cruda. Requisitos*. [en línea]. p. 3. [Consulta:23-10-2021]. Disponible en: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/9-5.pdf>

NTE INEN 1528:2012. *Norma general para quesos frescos no madurados. Requisitos*. [en línea]. pp. 2-5. [Consulta:23-10-2021]. Disponible en: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1528.pdf>

OJEDA AGUILAR, Claudio Rodrigo. Diseño e Implementación de un medidor electrónico de temperatura y pH [En línea] (Tesis de grado). Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias de la Ingeniería, Escuela de Ingeniería Civil Electrónica, Chile, 2011, p. 4. [Consulta:18-05-2021]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/myaccess.library.utoronto.ca/pubmed/11720961>.

ORMAZA VILLEGAS, Evelin Gisela. Evaluación del efecto conservante de nisina y EDTA sobre *Escherichia coli* en queso fresco [En línea] (Trabajo de titulación). Universidad de las Américas, Facultad de Ingeniería y Ciencias aplicadas, Quito, Ecuador, 2018, p. 38. [Consulta:18-11-2020]. Disponible en: <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/2790953>

OROZCO TOBAR, Belen Natalie. INCIDENCIA DE *ENTEROBACTERIACEAE* Y *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EN QUESOS FRESCOS EN EMPRESAS DEL CANTÓN CAYAMBE [En línea] (Trabajo de titulación). Universidad de las Américas, Facultad de Ingeniería y Ciencias aplicadas, Ecuador, 2018, p. 41. [Consulta:18-11-2020]. Disponible en: <https://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/9974/1/UDLA-EC-TIAG-2018-23.pdf>

PACHAR SOLANO, Luis Stalin. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE QUESO FRESCO PARA DETERMINAR SU GRADO DE INOCUIDAD Y ACEPTACIÓN [En línea] (Trabajo de titulación). Universidad Técnica de Machala, Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud, Carrera de Ingeniería en alimentos,

Ecuador, 2020, p. 18. [Consulta:18-11-202]. Disponible en:
http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/16346/1/E-10591_PACHAR%20SOLANO%20LUIS%20STALIN.pdf

PARDILLOS LARA, María Cristina. El mercado del queso en Ecuador. *Oficina Económica y Comercial de la Embajada de España en Quito* [en línea], 2020, (Ecuador), p.3. [Consulta:22-03-2022]. Disponible en:
<https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:q839cVUdFwkJ:https://www.icex.es/ices/GetDocumento%3FdDocName%3DDOC2020851677%26rendition%3DAlternateWeb%26urlNoAcceso%3D/ices/es/registro/iniciar-sesion/index.html%3FurlDestino%3Dhttps://www.icex.es:443/ices/es/navegacion-principal/todos-nuestros-servicios/informacion-de-mercados/estudios-de-mercados-y-otros-documentos-de-comercio-exterior/DOC2020851677.html%26site%3DicexES+%&cd=4&hl=es&ct=clnk&gl=ec>

PÉREZ ECHEVERRÍA, Fernando Gabriel. Proyecto de exportación de queso fresco de la empresa productos “San Salvador” de la ciudad de Riobamba – Ecuador, hacia la ciudad de Queens - Estados Unidos en el período 2016 [En línea] (Trabajo de investigación). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Administración de Empresas, Escuela Ingeniería de Finanzas y Comercio Exterior, Ingeniería Comercio Exterior, Riobamba, Ecuador. 2016. p. 18. [Consulta:18-01-2022]. Disponible en:
<http://dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/11343/1/52T00376.pdf>

PLAZA IBARRA, Luis Antonio. Análisis Microbiológico en Quesos Frescos que se Expenden en Supermercados de la Ciudad de Guayaquil , Determinando la presencia o ausencia de Listeria y Salmonella [En línea] (Tesis de grado). Escuela Superior Politecnica del Litoral, Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción, Guayaquil, Ecuador. 2013. p.174. [Consulta:21-03-2021]. Disponible en:
<http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/123456789/25404/TEsis%20LUIS%20ANTONIO%20PLAZA%20IBARRA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

PUIG PEÑA, Yamila; et al. "Agentes bacterianos asociados a brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en La Habana, 2006-2010". *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología* [en línea], 2013, (Cuba) 51(1), p. 74. [Consulta:22-03-2021]. ISSN 0253-1151. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/hie/v51n1/hie08113.pdf>

QUIMIS CALI, Yadira Isabel. Diseño e implementación de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y procedimientos operativos de sanitización (POES) en la Quesera empaedora del abuelo [En línea] (Tesis de grado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Carrera de Ingeniería en Industrias Pecuarias, Riobamba, Ecuador. 2016. p. 9. [Consulta:23-03-2022]. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/7162/1/27T0339.pdf>

QUINTUÑA YUGSI, Cristian Alcides. “Modelo de negocio para producción de lácteos (queso fresco), Toacaso, Latacunga – Ecuador” [En línea] (Tesis de grado). Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Administrativas, Ambato, Ecuador. 2017. pp. 14, 15. [Consulta:21-03-2022]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/26456/1/402%20o.e.pdf>

RAMOS SORIA, Ricardo Bolivar. Automatización del proceso de elaboración de queso fresco semiblando entero de la empresa el campesino [En línea] (Tesis de grado). Universidad Politecnica Salesiana Sede Quito-Campus Sur, Carrera de Ingeniería Electronica, Quito, Ecuador. 2018, p. 5. [Consulta:21-03-2022]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/15327/1/UPS%20-%20ST003497.pdf>

RAMÍREZ LÓPEZ, Carolina; & VÉLEZ RUIZ, Jorge Fernando. Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *Temas selectos de Ingeniería de alimentos* [en línea], 2012, 2, p. 132. [Consulta:22-03-2021]. Disponible en: <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-62Ramirez-Lopez-et-al-2012.pdf>.

REDDY, KVR; et al. Effect of Antimicrobial Peptide, Nisin, on the Reproductive Functions of Rats. *ISRN Veterinary Science* [en línea], 2011. [Consulta:22-03-2021]. Disponible en: <https://downloads.hindawi.com/archive/2011/828736.pdf>

REVISTA LIDERES. Un tercio de la producción láctea se dedica al queso [en línea], 2015. [Consulta:22-03-2021]. Disponible en: <https://www.revistalideres.ec/lideres/ecuador-produccion-lactea-queso.html#:~:text=Ocho%20de%20cada%2010%20ecuatorianos,su%20tradici%C3%B3n%20y%20a%20su%20precio.>

RIOFRÍO GRIJALVA, Renata Francisca. Caracterización de Lactosuero proveniente de cuatro producciones de diferentes tipos de queso Renata [En línea] (Trabajo de titulación). San Francisco de Quito. Facultad de Ciencias, Colegio de Ciencias e Ingeniería, Quito, Ecuador. 2014.

p.6. [Consulta:19-01-2021]. Disponible en:
<http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/3177/1/000110271.pdf>

RODAS PAZMIÑO, Karen; et al. "Presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos comercializados en la Ciudad de Milagro, Octubre –Noviembre 2013". *Revista Cumbres* [en línea], 2017, (Ecuador) 2(2), p. 25, 28. [Consulta:11-07-2021]. ISSN 1390-9541. Disponible en:
<http://oaji.net/articles/2017/3933-1491599854.pdf>

ROMERO DEL CASTILLO SHELLY, Roser; & MESTRES LAGARRIGA, Josep. "Productos lácteos Tecnología. *EDICIONS UPC* [en línea], 2004, (Catalunya), p.91. [Consulta:24-01-2021]. Disponible en:
<https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.3/36810/9788498802610.pdf?sequence=1&jsAllowed=y>

ROMERO HESQUIO, Andrea Angelica. "ADICIÓN DE NISINA A QUESO FRESCO ARTESANAL PARA DISMINUIR LA CARGA MICROBIANA" [En línea] (Trabajo de titulación). Benemerita Univesidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Quimicas, Puebla, Mexico. 2019. P .13. [Consulta:19-01-2022]. Disponible en:
<https://repositorioinstitucional.buap.mx/handle/20.500.12371/14765>

ROMERO MACHADO, Efrain Rodrigo; & HECTOR ARDISANA, Eduardo. "Efecto de la nisina sobre la conservación del helado tipo italiano.*Ciencia Unemi* [en línea], 2016, (Ecuador) 9(20). [Consulta:20-04-2021]. ISSN 2528-7737. Disponible en:
<http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/355#:~:text=La%20nisina%2C%20antibi%20B3tico%20sintetizado%20por,en%20la%20preservaci%20de%20helado>
s.

RUIZ DIAZ, Faustino; et al. Efecto del proceso de elaboración de queso en el contenido proteico y microbiológico del lactosuero [En línea] (Informe final de investigación). Universidad Nacional Autónoma de Chota, Chota, Cajamarca. 2018. p. 14. [Consulta:19-01-2022]. Disponible en:
<http://repositorio.unach.edu.pe/bitstream/UNACH/55/1/Suero.pdf>

RUVALCABA GÓMEZ, José Martín. Estudio de la microbiota asociada a la producción de queso adobera artesanal y sus pespectivas biotecnológicas [En línea] (Doctorado) Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigaciones en Biotecnología aplicada. 2020. p. 29. [Consulta:27-12-2020]. Disponible en: <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/28811>.

SÁNCHEZ MARTÍN, María Almudena; et al. "Nisina (N 234), aditivo utilizado como conservante en alimentos. *Gac Med Bilbao*" [En línea], 2019, 116(3), p. 166, 167, 171. [Consulta:27-12-2020]. Disponible en: <http://www.gacetamedicabilbao.eus/index.php/gacetamedicabilbao/article/view/718>

SÁNCHEZ ZUMBA, Andrea Elizabeth. Elaboración de un manual de operaciones para el proceso de fabricación de queso fresco de calidad en la Empresa Aychapicho Agro s S.A [En línea] (Proyecto de grado). Escuela Politécnica Nacional, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria, Quito, Ecuador. 2015. pp.5, 10, 124, 132. [Consulta:12-01-2021]. Disponible en: <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/10471/1/CD-6193.pdf>

SANGRONIS, Elba; & GARCÍA, Jesús. "Efecto de la adición de nisina en los parámetros físicos, químicos y sensoriales del queso telita." *Anales Venezolanos de Nutricion* [en línea], 2007, (Venezuela) 20(1), p. 12. [Consulta:18-11-2020]. ISSN 0798-0752. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-07522007000100003#:~:text=La%20calidad%20sensorial%20del%20queso%20con%20nisina%20no%20vari%C3%B3%20significativamente,sensorial%20del%20queso%20%22telita%22.

SARMIENTO SUAREZ, Andrés Roberto. Evaluación de nisina como bioconservante en leche fluida [En línea] (Proyecto de grado). Escuela Agrícola Panamericana 2012. Honduras. 2007. [Consulta:12-08-2021]. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/636/1/AGI-2007-T046.pdf>

SOLORZANO ZAMBRANO, Virginia Guadalupe. EVALUACIÓN DE LAS PRINCIPALES FINCAS PRODUCTORAS DE QUESO FRESCO ARTESANAL MANABA SOBRE LA PREFERENCIA SENSORIAL, CALIDAD FÍSICOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA [En línea] (Maestría). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Calceta, Ecuador, 2021. pp. 41, 45. [Consulta:12-12-2021]. Disponible en: <https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1586/1/TTMAI28D.pdf>

SUÁREZ GEA, Ana María. Producción de anticuerpos frente a la Nisina A: Estrategias de inmunización y desarrollo de inmunoensayos [En línea] (Tesis doctoral) Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Veterinaria, Madrid, 1997, p. 68. [Consulta:12-06-2021]. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/3053/1/T22066.pdf>.

TRUJILLO CHAVEZ, Alejandra Andrea. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO Y RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS DEL QUESO FRESCO QUE SE EXPENDE EN EL MERCADO DE SANTA ROSA, CIUDAD DE RIOBAMBA [En línea] (Trabajo de titulación). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Riobamba, Ecuador. 2016. pp. 58, 59. [Consulta:12-11-2021]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/6330/1/56T00673.pdf>

UCAR, Yilmas; et al. Effect of nisin on the shelf life of sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*) fillets stored at chilled temperature (4 ± 2 °C). *Aquaculture International* [en línea], 2020. [Consulta:12-01-2022]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/338884679_Effect_of_nisin_on_the_shelf_life_of_sea_bass_Dicentrarchus_labrax_L_fillets_stored_at_chilled_temperature_4_2_C

VALBUENA, Emiro; et al. Calidad microbiológica de las principales marcas de leche pasteurizada distribuidas en la ciudad de Maracaibo , Venezuela. *Revista Científica* [en línea], 2004, (Veneuela) 14(1). [Consulta:12-01-2021]. ISSN 0798-2259. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95911219009%0A%0A>

VALLEJO ANDI, Karla Marisol. “UTILIDAD DE LAS BACTERIOCINAS PRODUCIDAS POR BACTERIAS LÁCTICAS PARA LA BIOCONSERVACIÓN DE PRODUCTOS CÁRNICOS” [En línea] (Tesis de grado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Carrera de Ingeniería en Industrias Pecuarias, 2021. p. 1. [Consulta:18-01-2022]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/15524/1/27T00476.pdf>

VÁSQUEZ, Victor; et al. Evaluacion de la calidad bacteriologica de quesos fresco en Cajamarca. *Ecología Aplicada* [en línea], 2018, (Perú) 17(1). [Consulta:11-07-2021]. ISSN 1993-9507. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-22162018000100005&script=sci_arttext&tlng=pt

VELASCO BRICEÑO, Denis Alejandra. Bioconservantes en productos cárnicos :implicaciones frente a los principales referentes regulatorios en *Listeria monocytogenes* [En línea] (Maestría). Universidad de la Sabana, Facultad de Ingeniería, Maestría en diseño y gestión de procesos, 2018. p. 36. [Consulta:18-01-2021]. ISSN 03091740. Disponible en: <https://intellectum.unisabana.edu.co/bitstream/handle/10818/33440/Tesis%20Maestria%20-%20Denis%20Alejandra%20Velasco%20B.pdf;jsessionid=A05D350FA5BBDD59171D9EA4DD822D38?sequence=1>

VILLADA MORENO, José Juan. Conservadores químicos utilizados en la industria alimentaria [En línea] (Tesis de grado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, División de Ciencia Animal, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Coahuila (México). 2010. pp.8-37 [Consulta:18-01-2021] Disponible en:

<http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/456/61581s.pdf?sequence=>

[1](#)





UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 10 / 08 / 2022

| |
|--|
| INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S) |
| Nombres – Apellidos: Maria Magdalena Moreno Quishpi |
| INFORMACIÓN INSTITUCIONAL |
| Facultad: Ciencias Pecuarias |
| Carrera: Ingeniería en Industrias Pecuarias |
| Título a optar: Ingeniera en Industrias Pecuarias |
| f. responsable: Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz |


Cristhian Fernando Castillo Ruiz



1699-DBRA-UTP-2022