

I. INTRODUCCIÓN

Los productos lácteos son ricos elementos nutritivos, especialmente conveniente para los niños, el queso, es uno de los mejores alimentos, es rico en proteínas, nutrientes esenciales para la vida, contiene mucho calcio, vitaminas y todas las grasas que necesitamos para conservar el calor necesario, es una de las formas más antiguas de conservar los principales elementos nutritivos de la leche. Está compuesto por proteína (caseína) grasa y sales solubles de la leche que son concentrados para coagulación de la misma. En el país, la elaboración y el consumo de "queso fresco", llamado también "queso de mesa" o "blanco" es alto.

La importancia del queso como alimento en todas las sociedades, radica en que representa una forma de consumo indirecto de leche, además su tecnología es accesible y su valor nutritivo es alto. Los quesos son fuentes de proteínas, grasas, vitaminas y minerales especialmente calcio, hierro y fósforo. Dentro de los tipos de quesos están los frescos es decir los no madurados, generalmente elaborados con leche cruda de vaca y muy consumidos en el país. Los quesos pueden ser vehículo de microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* y *Listeria monocytogenes*. La fuente más importante de contaminación es la leche, que sumado a las deficientes condiciones higiénicas del proceso artesanal de fabricación del queso hacen el producto final riesgoso para el consumidor.

Por esta razón es importante buscar alternativas que disminuyan la presencia de microorganismos patógenos y la flora responsable del deterioro del queso fresco. Una de esas alternativas es el uso de bactericidas entre ellas la nisina, cuyo uso en alimentos es permitido en más de 50 países en el mundo que ha tenido un mayor aumento de la vida de anaquel en los productos que se ha utilizado. El sector lácteo del Ecuador tiene una serie de problemas en cuanto a manipulación, transporte, cadenas de distribución, producción higiénica de la leche y en la elaboración de su principal producto de demanda que es el queso fresco, la cual hace necesario mejorar la calidad y vida de anaquel del producto. Por tal razón la investigación tiene el objetivo de estudiar el efecto de la utilización de la nisina como antibiótico en la elaboración de queso fresco. Resulta sorprendente que, pese al

valor biológico y dietético de la leche y productos lácteos no se consuman en cantidades mayores si se tiene en cuenta su ventajoso precio en comparación con el de otros alimentos. Los productos lácteos son ricos en elementos nutritivos, especialmente conveniente para los niños. El queso por ejemplo, es uno de los mejores alimentos, es rico en proteínas, nutriente esencial para la vida, contiene mucho calcio, vitaminas y todas las grasas que necesitamos para conservar el calor necesario.

El queso es un producto lácteo fresco o maduro que se obtiene por la separación del suero de la leche que está listo para el consumo después de la fabricación y no será sometido a ningún cambio físico o químico adicional. Los quesos frescos Suaves, húmedos, a veces con textura de mousse, se consumen cuando tienen entre 1 y 15 días, antes de que empiece a formarse la corteza. A menudo se envuelven en cenizas o se cubren con hierbas, nueces u otros frutos para realzar su sabor. La nisina es una bactericida que representa a un grupo de péptido antimicrobiano de 34 aminoácidos producido en forma natural por la bacteria *Lactococcus lactis* spp. y se emplea como aditivo aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) para destruir las bacterias gram positivos (*Staphylococcus aureus*) y, en la etapa pre emergente, a esporas Gram positivo (*Clostridium botulino*), siendo posible ampliar su espectro de actividad a los microorganismos Por lo anotado anteriormente se plantearon los siguientes objetivos:

- Elaborar queso fresco utilizando diferentes niveles (0.4, 0.6 y 0.8%) de nisina como antibiótico.
- Establecer el nivel optimo (0.4, 0.6 y 0.8%), de nisina como antibiótico en la elaboración de queso fresco.
- Evaluar las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas en la conservación del queso fresco elaborado con nisina a diferentes niveles.

- Determinar los costos de producción y la rentabilidad a través del indicador beneficio/ costo, de la elaboración del queso fresco con diferentes niveles de nisina.

II. REVISION DE LITERATURA

A. QUESO

1. Definición

En <http://www.consumaseguridad.com>.(2003), se reporta que el queso es el producto maduro obtenido por la separación del suero después de la coagulación de la leche natural, nata, suero de mantequilla o la mezcla de estas .Su valor nutritivo de pende de la elaboración de la materia prima y del proceso de maduración.

Según <http://www.laenciclopedia libre.com>.(2003), el queso es un alimento sólido elaborado a partir de la leche cuajada de vaca, cabra, oveja, búfala, camella u otros mamíferos rumiantes. Es la conserva ideal pues muy difícilmente se estropea con el transcurso del tiempo ya que al secarse mejoran sus cualidades en relación al peso. La leche es inducida a cuajarse usando una combinación de cuajo (o algún sustituto), y acidificación. Las bacterias se encargan de acidificar la leche, jugando también un papel importante en la definición de la textura y el sabor de la mayoría de los quesos. Algunos también contienen mohos, tanto en la superficie exterior como en el interior.

Sánchez, J. (2005), indica que el queso es un alimento básico que se consume desde tiempos remotos y cuyo nacimiento fue, sin duda fruto de la casualidad. En un principio el queso se hacía dejando la leche, batiéndola luego con unas ramas, prensando la mezcla con unas piedras. Posteriormente esta masa se dejaba secar al sol y por último se espolvoreaba con sal. Al largo de los siglos las técnicas artesanas fueron produciendo una gran diversidad de quesos .La intervención de las iglesias es fundamental para el perfeccionamiento de los

métodos a través de las ordenes monásticas, que a su vez contribuyeron a la difusión de las técnicas.

2. Variedades de quesos en el Ecuador

En la página <http://www.sica.gov.ve>,(2009), se reporta que en el Ecuador, actualmente existen una gran variedad de quesos y que para su clasificación se los ha agrupado bajo los siguientes criterios:

Según el contenido de agua del queso:

- Quesos frescos o sin madurar
- Quesos blandos o tiernos
- Quesos semi curados o semi maduros
- Quesos curados o maduros

Segun la textura del queso:

- Quesos compactos
- Quesos con ojos redondeados y granulares
- Quesos con ojos de forma irregulares

Según el contenido de grasas:

- Quesos grasos
- Quesos semigrasos
- Quesos secos

3. Queso fresco

El Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización INEN. (1996), reporta que el queso fresco es un queso que está listo para el consumo después de la

fabricación y no será sometido a ningún cambio físico o químico adicional. No requieren almacenamiento y salen a la venta inmediatamente después de obtenidos, es decir sin madurar.

4. Proceso de elaboración del queso

Según Revilla, A. (1996), el procedimiento de producción de un tipo de queso, casi siempre, indica el porcentaje de grasa que debe tener la leche de la cual se va a obtener el queso. Por esta razón, algunas veces se tiene que reducir o aumentar el contenido de grasa de la leche normal, ya sea descremado, mezclando diferentes leches o añadiendo crema.

a. Garantía de calidad

González, M. (2002), reporta que en la industria alimentaria, se producen gran cantidad y diversidad de productos alimentarios para su distribución y venta, a menudo en distintos países. Sería imposible, y en ocasiones destructivo, comprobar todos y cada uno de los productos elaborados para asegurarse de que cumplen todos los requerimientos de seguridad y calidad. En lugar de ello, el técnico aplica programas de garantía de calidad para asegurarse de que los productos alimentarios cumplan los requisitos necesarios, y se ajusten a la legislación alimentaria en vigor.

Frankel, R. (1999), reporta que la garantía de calidad se basa en el uso de sistemas de análisis aleatorio en puntos críticos de control. En estos, el material que se está procesando y el proceso en si deben ser conocidos para identificar los riesgos asociados con cada paso para así definir los puntos críticos de control. Es en estos pasos donde se controla el producto para garantizar la eliminación o reducción suficiente de los diferentes riesgos. Por ejemplo, la leche, alimento rico en proteínas, es nutritiva tanto para el ser humano como para ciertos microorganismos, y es un medio en el cual estos pueden estar presentes. Algunos microorganismos son inoos, mientras que otros pueden producir enfermedades como la tuberculosis. No obstante, las bacterias patógenas mueren por acción del

calor, de modo que, por ley, es obligado calentarla a 63° C durante 30 minutos como parte del proceso de pasteurización, así llamado en honor al famoso biólogo francés Louis Pasteur.

b. Procesos de elaboración del queso

González, M. (2002), la leche se somete a diferentes tratamientos para obtener un producto homogéneo y con parámetros óptimos para la obtención del queso que se fabrica, entre estos tenemos:

- Filtrado
- Clarificado
- Desnatado
- Homogenización
- Pasterización a 72C /15 segundos HTST o en cuba a 63C/3 minutos.

[Http://:www.Queseriaemprendedora.com](http://www.Queseriaemprendedora.com).(2004), indica que el proceso para la elaboración del queso artesanal implica varios procesos entre estos tenemos:

- Recepción de la leche y control de calidad.
- Filtrado de la leche: cuya finalidad es la eliminar las impurezas y partículas gruesas que se encuentran en la leche.
- Estandarización de la materia grasa: para la elaboración de queso fresco se descrema el 8% de leche total que se va a producir.
- Tratamiento térmico: Pasterización, higienización con la finalidad de eliminar y destruir las bacterias patógenas, por medio del tratamiento térmico.
- Enfriamiento.- Cuando la pasterización alcance 70°C, se inicia el enfriamiento hasta 40°C.
- Adición de cloruro de calcio.- La cantidad de cloruro de calcio que se añade es de 20cc por cada 100 litros de leche a 40°C. de temperatura.

- La adición de calcio tiene como finalidad principal la de recuperar el calcio desnaturalizado por efecto de la pasteurización.
- La adición de sales de calcio facilitan la coagulación ya que los iones de calcio forman puentes entre micelas de caseína, aumentando el tamaño de las partículas y por lo tanto disminuyendo el tiempo de coagulación dando mejor firmeza al coagulo y facilitando la salida del suero eliminando mejor la retención de materia grasa y otros sólidos.
- Adición de cuajo: Se adiciona cuajo líquido (7 ml por cada 100 lt de leche). Antes de la adición del cuajo a la leche se debe tomar en cuenta varios factores que influyen en la elaboración de un buen queso.
- Medir la cantidad exacta de cuajo que se añadirá en función al volumen de leche que se va cuajar y de acuerdo a indicaciones del fabricante. Verificar que la temperatura se la optima para que el cuajo actué. (37°).
- Agitación por un minuto, con mucho cuidado para evitar la formación de espuma. Se detiene la agitación y se deja en reposo para que el cuajo actué, tapar el recipiente para evitar la pérdida de calor.
- Tiempo de cuajado: Es el periodo que transcurre desde la adición del cuajo hasta el instante en que la cuajada adquiere la consistencia adecuada para realizar el desuerado (30 minutos). El final del cuajado puede determinarse por algunos procedimientos prácticos, entre los que se encuentran los siguientes.
- Se coloca el reverso de la mano sobre la superficie de la cuajada para apreciar la firmeza de esta. Cuando la leche coagulada ya no se adhiere a la piel, se considera que su cohesión es suficiente y puede iniciarse el desuerado.
- Método del ojal. Consiste en introducir el dedo índice (o un cuchillo) en la cuajada y retirarlo lentamente, a fin de formar un pequeño promontorio que forma un ojal, por el cual exuda suero; este suero no debe contener partículas de caseína, lo que indica una coagulación incompleta.

- Se presiona un pequeño trozo de cuajada entre los dedos; el suero que escurre no debe estar turbio ni lechoso.
- Cortado de la cuajada: El cortado de la cuajada tiene el propósito de favorecer la eliminación del suero. Esta operación se realiza comúnmente con liras. La cantidad de desuerado, aumenta linealmente de acuerdo con el troceado, aunque existen límites; si este es muy intenso, las partículas de coagulo quedan muy finas y retienen grandes cantidades de suero durante el prensado, el diámetro de los granos de la cuajada oscila entre 2 mm y 3 cm.
- Reposo: De 3 a 5 minutos, luego se realiza la remoción de la cuajada adherida a las paredes de la marmita, son volteados con la ayuda de paletas de plástico.
- Segundo corte: Se realiza con mucha delicadeza, para evitar pérdidas por pulverización de los granos.
- Batido de la cuajada: Inmediatamente después del troceado o cortado se efectúa el batido de los granos de cuajada para acelerar y completar el desuerado, al renovar continuamente la superficie de exudación e impedir la adherencia de los granos y así evitar la formación de un amasijo que retiene el liquido. El batido se realiza generalmente con batidores. Además, el batido tiene un efecto beneficioso sobre los granos de cuajada, ya que ayuda a que se cierren las grietas que inicialmente presentan (os granos recién cortados, que de esta forma alcanzara una estructura más uniforme.
- Desuerado: Al finalizar el batido, se saca el agitador o pala, y los granos de cuajada se depositan rápidamente en el fondo por razón de su peso. Después se puede empezar a sacar parte del suero que no se necesita.
- Lavado de los granos de cuajada: el lavado de los granos de cuajada se efectúa poco después del troceado y del desuerado. El lavado sirve para diluir los componentes del lacto suero y si es muy prolongado, puede eliminarse el liquido y el acido láctico que retienen los granos. El lavado se realiza generalmente con agua caliente (38°C) y sal (aproximadamente 1.76 lb. Por

cada 100 lt.). La lactosa es uno de los componentes que se extrae con el lavado y por ello, disminuye la posibilidad de acidificación e inhibir el crecimiento de microorganismos.

- Segundo batido: la agitación de la mezcla agua, suero, sal cuajada se recomienda para darle consistencia a los granos de cuajada y permitirle que la sal entre muy bien en todos los gránulos. Se aconseja batir por espacio de 5 minutos.
- Desuerado Final: Una vez que las partículas de cuajada adquiere una consistencia estable deseada, se produce a la eliminación del suero.
- Batido final: La agitación dura de acuerdo con el grado de desuerado; cuanto más seco sea el grano, menor es el tiempo de agitación. El punto final de la agitación puede conocerse al colocar una porción de granos entre los dedos y presionar; al dejar de ejercer presión, los granos deben recuperar su forma original.
- Moldeado de los quesos: El moldeado tiene por objeto lograr que los granos de cuajada suelden y formen piezas grandes. Existen varias formas y tamaños de moldes que proporcionan características muy especiales a los quesos
- Enmallado de los quesos y Prensado: El prensado de los quesos tiene por objeto eliminar el suero sobrante; puede realizarse por la presión que ejerce al aplicar una fuerza externa. Para quesos frescos el prensado dura 2 horas.
- Salado y oreo del queso: La salmuera es una mezcla de agua con sal (21° Bourne), donde se sumergen los quesos. El tiempo de salado para quesos fresco es de 2 horas. Una vez que ha concluido el salado del queso se los deja en oreo y se los carta los sobresalientes.
- Almacenamiento y empacado: Los quesos son trasladados a la cámara de refrigeración para su almacenamiento a (4°C). Luego son empacados en fundas plásticas y selladas para su posterior comercialización.

c. Los efectos del salado son múltiples

Pérez, A. (2001), Indica que los efectos del salado son múltiples y entre ellos tenemos:

- Protección contra los microorganismos indeseables; su finalidad más inmediata es la lucha contra la invasión microbiana de la parte superficial. La sal frena el desarrollo de bacterias de la putrefacción y productoras de gas.
- Drenaje del suero restante a causa de la acción higroscópica de la sal; esta contribuye a la formación de la corteza, y efecto potenciado sobre el sabor del queso. Ligero aumento en la solubilidad de las proteínas del queso fresco.

5. Componentes del queso fresco

Madrid, A. (1999), expresa que los componentes para la elaboración del queso fresco constan:

a. La leche

El mismo Madrid, A. (1999), reporta que la leche empleada en la elaboración del queso debe ser pasteurizada que debe presentar características organolépticas normales, estar limpia y libre de calostro, conservantes, neutralizantes y adulterantes. La leche pasterizada opcionalmente puede ser adicionada de vitamina A no menor de 2000 UI/litro y D en una cantidad no menor a 400UI/litro dentro de los límites de buenas prácticas de manufactura.

b. Aditivos (Optativo)

Veisseyre, R. (1988), afirma que la adición de Cloruro de calcio de 10-20 gramos/100 litros de leche es para corregir defectos en la coagulación de la leche que pueden ser producidos por tratamientos térmicos excesivos durante la pasterización, o por leches que son deficientes en sales de calcio. El cloruro de calcio aumenta el rendimiento y determina una mayor retención de grasa y de

otros sólidos. La coagulación es rápida, el suero claro y el escurrimiento del mismo es rápido.

c. Fermento láctico (Optativo)

González, M. (2002), reporta que con el uso de la pasterización se pierde las bacterias lácticas que tiene la leche; entonces, se hace necesario sustituir estas bacterias utilizando los fermentos lácticos producidos en condiciones técnicas que garanticen su calidad. Los fermentos lácticos están constituidos principalmente por *Streptococcus lactis* y *Streptococcus cremoris*, bacterias que fermentan la lactosa (azúcar de la leche) con producción de ácido láctico que generalmente bien mezcladas con otras bacterias como el *Leuconostoc citroborum*, *Streptococcus diacetylactis* que fermentan el ácido cítrico y citratos con producción de aroma, obteniéndose quesos de mejor calidad. La adición de fermento láctico es de 500ml/100 litros de leche. Usualmente se utiliza un periodo de maduración de 5 a 10 minutos. Después que el fermento láctico ha madurado adecuadamente a la leche, se debe agregar el cuajo y agitarlo durante 3 minutos.

d. Cuajo

Veisseyre, R. (1988), señala que la adición de cuajo líquido es de 10 cc por 100 litros de leche o cuajo en polvo 3.5 gramos en 100 litros. En ambos casos se debe agregar agua limpia y pura (hervida o potable) a temperatura ambiente en una cantidad de 100ml. Esta dilución facilita y asegura que se mezcle bien en la leche. Se agita en la leche con el cuajo durante 3 minutos y se deja en total reposo. La coagulación de la leche puede ser lograda por la acción de compuestos ácidos o enzimas. Es importante indicar que la coagulación enzimática de la leche es influida por la concentración del cuajo, la acidez de la leche, la temperatura y por la cantidad de calcio soluble presente.

Para <http://industrializaciondelaleche.com>.(2009), la fuerza del cuajo o poder coagulante, está determinado por el número de centímetros cúbicos de leche que

coagula un centímetro cubico de cuajo a una temperatura dada y en un tiempo de terminado; de aquí que deriva que un centímetro cubico es aquel que a 35 °C cuaja en 40 minutos 10 litros de leche; esto es que tiene un poder coagulante de 1:10.000. El cuajo en polvo puede venir de 1:10.000 a 1:15.000; el cuajo microbiano viene con una fuerza aproximada de 1:25.000.

6. Valor nutritivo del queso

El Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización INEN. (1996), manifiesta que el queso analizado según las normas técnicas deberá cumplir con los requisitos establecidos en el cuadro 1.

Cuadro 1. REQUISITOS DEL QUESO FRESCO.

Requisitos	Tipo de queso	Media	Min.	Max.	Método de ensayo
Humedad	Queso fresco común	%	—	65	INEN 63
	% Queso fresco extra húmedo		>65	80	INEN 63
Grasa en el extracto seco					
	Ricos en grasa	%	>60		INEN 64
	Grasos	%	>45	60	INEN 64
	Semigrasos	%	>25	45	INEN 64
	Pobres en grasa	%	>10	25	INEN 64
	Desnatados	%	—	10	INEN 64

Fuente: Norma INEN 1528 (1996).

La Food and Agricultura Organización (FAO, 2000), señala la siguiente composición de los quesos frescos que se indican en el cuadro 2.

Cuadro 2. COMPOSICIÓN NUTRITIVA DEL QUESO FRESCO.

NUTRIENTE	CONTENIDO %
Grasa	24.0
Proteínas	21.0
Sales Minerales	2.0
Agua	50.0

Fuente: FAO (2000).

7. Requisitos microbiológicos del queso

El Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización INEN. (1996), indica que el queso ensayado de acuerdo con las normas ecuatorianas deberá cumplir con los siguientes requisitos microbiológicos que se describe en el cuadro 3.

Cuadro 3. REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS DEL QUESO.

Requisitos	clase	n	c	m	M	Método de ensayo
E coli	3	5	2	100/g	500/g	INEN 1529
S aureus	3	5	2	100/g	1000/g	INEN 1529
Salmonella	3	5	0	0	0	INEN 1529

n = Numero de muestras que deben analizarse

c = Numero de muestras que se permite que tengan un recuento mayor que m pero no

Mayor que M.

m = Recuento máximo recomendado

M = Recuento máximo permitido

Fuente: INEN 1528(1996).

B. CARGA MICROBIANA EN EL QUESO FRESCO

En <http://www.sica.gov.ee>. (2009), se indica que la carga microbiana en el queso está constituida por los siguientes microorganismos:

1. Escherichia Coli

El mismo <http://www.sica.gov.ee>.(2009), manifiesta que la *Escherichia coli* es una bacteria con forma de bastón (bacilo), que pertenece a la familia de las *Enterobacteriaceas* (Gram negativas), del tipo anaerobica facultativa, por ende puede vivir soluciones acuosas como la leche. Esta bacteria se encuentra en el tracto intestinal de los mamíferos, si la bacteria no adquiere elementos genéticos que codifican factores virulentos, la bacteria actúa como un comensal formando parte de la flora intestinal y ayudando a la absorción de nutrientes, por lo que puede manifestarse en la leche. Es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa provocando la acidez desarrollada dentro de la leche sin pasteurizar.

Sanchez, J. (2005), reporta que la *Escherichia coli* puede causar infecciones intestinales y extra-intestinales generalmente severas, tales como infecciones del aparato excretor, meningitis, peritonitis, mastitis, septicemia y Gram-negativa.

2. Staphylococcus aureus

Saiven, N. (1997), menciona que el *Staphylococcus aureus* Es una especie bacteriana integrada por formas cocáceas (esferas), se divide en tres planos para formar grupos de células irregulares semejantes a racimos de uvas, por lo que se agrupan regularmente en racimos. Son inmóviles y carecen de esporas, son microorganismo del tipo gram positivas pero las células viejas y los microorganismos fagocitados se tiñen como gram negativos. Su metabolismo es de tipo fermentativo, del tipo aerobios y anaerobios facultativos, por lo que pueden

desarrollándose en la leche y sus derivados fermentando la lactosa y provocando acidez desarrollada.

Montgomery, D. (1991), reporta que la bacteria *Staphylococcus aureus* es un patógeno común en el ser humano que se localiza principalmente en las mucosas y la piel. Puede originar abscesos y forúnculos en la piel además de provocar osteomielitis, endocarditis y otro gran número de infecciones. Esta bacteria posee termo resistencia, lo que provoca que resista en parte la pasteurización, este coco produce la enzima penicilina, por ende presenta resistencia ante la penicilina, lo que sugiere que su tratamiento se realice con otro tipo de antibióticos, como es el caso de la nisina objeto de estudio de esta tesis.

3. Salmonella

González, M. (2002), afirma que la *Salmonella* es un género de bacteria que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, formado por bacilos gram negativos, anaerobios facultativos capaz de desarrollarse en soluciones acuosas, posee flagelos que le proporcionan movilidad, no desarrollan capsula ni esporas.. Fermentan glucosa por poseer una enzima especializada, pero no lactosa por esto no fermentan la leche y sus derivados, por eso su presencia en dichos productos no se la puede verificar con un cambio de pH producido por la acidez desarrollada.

Sánchez, J. (2005), señala que existen tres especies: *Salmonella typhi*, *S. choleraesuis* y *S. enteritidis*. Esta última presenta más de 1.400 variedades antigénicas distintas. Con excepción de *S. typhi*, que afecta a los seres humanos y produce la fiebre tifoidea, la mayoría son patógenas tanto para el hombre como para los animales. En los seres humanos las salmonellas son responsables de diferentes cuadros clínicos como la fiebre tifoidea y paratifoidea, la gastroenteritis por *Salmonella* (salmonelosis), y las bacteriemias e infecciones localizadas. Las salmonellas se transmiten sobre todo a través de alimentos contaminados. Con importancia clínico epidemiológica, las más de 2000 seudovariedades de *Salmonella* pueden agruparse en tres divisiones ecológicas (spp. son subespecies):

- *Salmonella spp.* adaptadas a vivir en el ser humano, entre ellas, *S. typhi*, *S. paratyphi A, B y C*;
- *Salmonella spp.* adaptadas a hospederos no humanos, que circunstancialmente pueden producir infección en el hombre, entre ellas, *S. dublin* y *S. cholerae-suis*;
- *Salmonella spp.* sin adaptación específica de hospedero, que incluye a unas 1800 serovariedades de amplia distribución en la naturaleza, las cuales causan la mayoría de las salmonelosis en el mundo.

C. NISINA

1. Definición

Montgomery, D. (1991), indica que la nisina es el antibiótico mejor conocido entre las bacterias lácticas y el único que se produce industrialmente y se emplea en las industrias alimentarias. Es elaborado por determinadas cepas de la especie *S. Lactis*, de hecho todas las cepas parece que producen péptido básicos pero no todos están dotados de actividades antibacterianas. La nisina es soluble y estable en solución ácida, pH 2,0 y se inactiva en medio alcalino. Es termo estable y puede ser calentada a 100°C durante 5 min a pH 4,6. Es un antibiótico producido por cepas de *Lactococcus lactis* microorganismos que se encuentran de forma natural en la leche y productos lácteos. Tiene un peso molecular entre 8000 y 10000 D y está formado por una cadena de polipeptidos. Es mucho más estable frente a temperaturas de esterilización (121°C) cuando el pH del medio es bajo y de esta forma se conserva íntegramente.

2. Propiedades anti microbianas básicas

<http://www.quimicanet.com>.(2009), tiene un espectro de acción más importante contra las esporas bacterianas que contra la forma vegetativa de la célula, debido

a que su acción afecta a la membrana citoplasmática haciéndola mas sensible a la temperatura. Actúa contra bacterias Gram positivas esto hace que se considere que tiene un espectro antibacteriano limitado ya que no afecta a las Gram negativas y los mohos , levaduras tienen la capacidad de descomponerla con rapidez. La nisina es un bactericida que representa a un grupo de péptido antimicrobiano de 34 aminoácidos producido en forma natural por la bacteria *Lactococcus lactis* spp. y se emplea como aditivo aprobado por la Food and Drug Administración (FDA) para destruir las bacterias Gram positivos (*Staphylococcus aureus*) y, en la etapa pre emergente, a esporas Gram positivo (*Clostridium botulino*) siendo posible ampliar su espectro de actividad a los microorganismos Gram negativos (*Escherichia coli*) al combinar su acción con agentes quelantes como el EDTA Además, la nisina se inactiva con las enzimas digestivas del hombre, posee termoestabilidad a pH ácido, es atóxica.

Madrid, A. (1999), manifiesta que algunas especies de bacterias como *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, tienen una sensibilidad a la nisina , la misma sensibilidad la tienen las especies formadoras de esporas *Bacilium* y *Clostridium* lo juega un papel mas decisivo que determina la vida de anaquel del producto alimenticio procesado. El antibiótico es también termo estable especialmente en condiciones de acidez de aquí que la nisina se puede emplear como coadyuvante del tratamiento térmico.

Eley, A. (1994), indica que el proceso calor nisina evita el desarrollo de esporas que sobreviven al tratamiento térmico sin embargo a las concentraciones utilizadas corrientemente de 100U/g , la nisina no parece que sea esporicida por lo tanto el proceso debe planificarse de forma que quede suficiente cantidad de nisina después del tratamiento térmico y durante el almacenamiento para asegurar la continua inhibición del crecimiento de esporas Cuando la legislación lo permite la nisina no solo se emplea para prevenir abombamiento de las latas sino también para conservar el queso procesado y el chocolate con leche . Otras industrias la emplean conservar guisantes, alubias en salsa. La nisina es un efectivo preservativo para la industria alimenticia, la estabilidad de la nisina en

medio ácido hace realizar procesos térmicos de productos sin pérdidas visibles de la actividad preservada.

3. Aplicación de la nisina en los diferentes productos

Según <http://www.nisinima.com>.(2009), la aplicación de la nisina puede realizarse en la elaboración de otros productos como son:

- Queso y preparaciones de queso procesado: La adición de nisina es de 100 - 200mg/Kg incrementa la vida de anaquel a por lo menos 6 meses.
- Leche pasteurizada y esterilizada y saborizada: La adición de nisina es de 50mg/kg antes de la pasteurización, incrementa la vida de anaquel a temperatura ambiente de 2 a 6 días.
- Leche evaporada enlatada: La adición de nisina es de 80 - 100mg/Kg previene completamente el crecimiento de bacterias formadoras de esporas, permite la reducción del tiempo y proceso por 10 minutos.
- Postres de leche incluyendo, harinas, azúcares, crema o leche. La adición de nisina es de 50 a 100mg/Kg hace posible la reducción de nivel de calor de proceso y mejora la calidad del producto.
- Chicharos, frijoles y papas enlatadas: La adición de nisina es de 100 - 150 mg/kg aumenta la vida de anaquel a 2 años y permite procesarlos a menor temperatura, mantener las propiedades de sabor e integridad del producto.
- Hongos enlatados: La adición de nisina es de 100 - 200mg/Kg previene la germinación de esporas después del proceso térmico y hace posible garantizar la mayor vida de anaquel en climas cálidos.
- La nisina es también utilizada en sopas enlatadas, tomates enlatados, espárragos y otros vegetales enlatados. En el cuadro 4. Se describe las características físico químicas de la nisina.

Cuadro 4. CARACTERISTICAS FISICO QUIMICAS DE LA NISINA.

VARIABLE	CONTENIDO
PH de 10% solución acuosa	3.10 a 3.60
Humedad	< 3%
Metales pesados (Pb)	< 2mg Kg
Arsénico	< 1mg Kg
Potencia hidratante	> 1000 IU g

Fuente: <http://www.Proquisa.com>.(2009).

D. INVESTIGACIONES DE APLICACION DE NISINA PARA QUESOS

En la tesis elaborada por Maldona, R y Llanca, L. (2007), en la que se evaluó el "Efecto de la incorporación de nisina sobre la supervivencia del *Staphylococcus aureus* en queso de mano, fue estudiado el efecto inhibitorio de 500UI/g de nisina sobre la supervivencia del *Staphylococcus aureus* (102 UFC/g) inoculados en queso de mano almacenados en refrigeración a $10\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante siete días. La proporción probada fue escogida a partir de pruebas preliminares. El queso de mano es del tipo pasta hilada y presenta alta humedad. Se elaboro con leche pasteurizada (65°C por 30 minutos) a la que se le a grego cloruro de calcio (20 g/100 L de leche) y 2 % de bacterias acido lácticas. La cuajada, luego de fermentada, alcanzo el "punto" (± 4 horas) y se fundió en un caldero a 70°C en donde manualmente se moldeo bajo condiciones higiénicas. Finalmente, los quesos se colocaron en una bolsa y se les agrego suero. La mitad de los quesos contenía 102 UFC/g de la bacteria (queso control) y a la otra mitad la bacteria más la nisina (queso experimental).

Las características fisicoquímicas del queso de mano control (sin nisina) en promedio fueron: humedad 50.72%, grasa 48.48% (bs), proteína 44.92% (bs),

NaCl 5.2% (bs), pH 5 y acidez 0.53%. En las características fisicoquímicas, no hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los quesos de mano control y experimental. El uso de la nisina en el queso experimental, inhibió el crecimiento de la bacteria *Staphylococcus aureus*, mientras que en el queso control el crecimiento fue de cinco ciclos logarítmicos (100.000UFC/g) a los siete días de almacenamiento

En la evaluación del efecto de la adición de nisina en los parámetros físicos, químicos y sensoriales del queso "telita" de autoría de Elba Sangronis y Jesús García, se observó que el uso de la nisina, una bacteriocina natural, es una alternativa para disminuir los riesgos de la elaboración de queso con leche cruda, aumentarle la vida útil del producto y en consecuencia mejorar su comercialización. En este estudio se evaluó el efecto de dos concentraciones de nisina (10 y 16,7 mg/kg queso), en las características físicas, químicas y en la calidad sensorial del queso "telita" elaborado con 3 partidas de leche fresca de diferente procedencia. El queso "telita" sin la adición de nisina se usó como control. Se prepararon 3 lotes de quesos. A la leche cruda se le determinó densidad, pH, acidez, proteínas, grasa, cenizas, fósforo y calcio. Se le determinó humedad, proteínas, grasas, aw, pH y calidad sensorial a 24h de elaborados los quesos. Se observaron variaciones significativas en la composición de las tres partidas de leche utilizadas. La composición promedio de los quesos analizados fue: humedad 64%, proteínas 16%, grasas 17%, aw 0,98 y pH 5,7. La calidad sensorial del queso con nisina no varió significativamente con respecto al queso control. Los resultados indican que la adición de nisina en las concentraciones ensayadas no afectó la composición química y la calidad sensorial del queso "telita".

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO

La presente investigación se realizó en las instalaciones de la planta de lácteos Tunshi que es parte de la Hda. Experimental Tunshi de propiedad de la ESPOCH ubicada en la Comunidad de Tunshi, Cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo. La duración total del trabajo experimental fue de 16 semanas distribuidos en : las dos primera semanas para una adquisición y análisis de materia prima , 14 semanas para la elaboración del queso incluidos los análisis físico químicos , organolépticos y la última semana en la tabulación de datos. En el cuadro 5, se describe las Condiciones Meteorológicas de Tunshi.

Cuadro 5. CONDICIONES METEREOLÓGICAS DE TUNSHI.

Características	AÑOS		
	2008	2009	Promedio
Temperatura, °C	13.50	12.70	13.10
Precipitación, mm.	500.40	573.60	558.60
Humedad relativa, %	63.00	61.00	66.25

Fuente: Estación Meteorológica, Facultad de Recursos Naturales. ESPOCH (2007).

B. UNIDADES EXPERIMENTALES

En la presente investigación se utilizó 20 unidades experimentales desglosadas en 4 tratamientos con 5 repeticiones. El tamaño de la unidad experimental fue de 3 kg de queso fresco.

C. MATERIALES Y EQUIPOS

1. De campo

- Olla pasteurizadora (acero inoxidable AISI)
- Mesa de moldeo
- Prensa
- Termómetro
- Tela de filtrado
- Baldes de plástico
- Lira
- Paleta de madera
- Mallas de plástico
- Moldes acero inoxidable
- Jarra de 1lt
- Tina de salmuera

2. De laboratorio

- Termo Lactodensímetro
- Pipeta del 10 ml
- Termómetro
- Balanza digital
- Peachimetro digital
- Centrifuga Gerber
- Dosificador de 10ml
- Estufa
- Capsula de porcelana
- Vaso de precipitación de 50ml
- Probeta de 250ml

3. Reactivos

- Solución 1/10 normal de hidróxido de sodio
- Solución indicadora de fenolftaleína alcohólica al 2%
- Alcohol
- Sal refinada

4. Aditivos

- Cuajo líquido
- Nisina
- Cloruro de Calcio

5. Análisis físico - químicos

a. Equipos

- Estufa
- Centrifuga de manual
- Butirometro
- Peachimetro
- E. Digestión
- Destilador
- Titilación

b. Materiales

- Erlenmeyer
- Pipeta 10ml

- Pipeta aforada
- Tapones para los butirometros
- Papel
- Balón de Kjeldahal 500ml
- Probeta 100ml
- Barra
- Espátula
- Varilla de vidrio

c. Reactivo

- Acido Sulfúrico
- Alcohol etílico
- Acido clorhídrico
- Hidróxido de Sodio
- Dióxido de Selenio
- Zinc
- Carbonato de Sodio
- Acido Bórico

6. Análisis microbiológico

a. Equipo

- Estufa
- Microscopio

b. Materiales

- Asa de cultivo
- Caja petri

- Mechero
- Placa porta objetos
- Asa de siembra
- Mascarilla
- Mechero de Bunsen
- Bandeja de tinción

c. Reactivo

- Agares
- Agua destilada

D. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

En la presente investigación se evaluó la utilización diferentes niveles de nisina en la elaboración de queso fresco modelados bajo un Diseño Completamente al Azar con arreglo bifactorial por la presencia de los ensayos que se los tomó como factor de estudio, analizándolos bajo el siguiente modelo lineal aditivo:

$$Y_{ijk} = u + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = variable a evaluar

u = media general

α_i = efecto de los niveles de nisina

β_j = efecto de los ensayos

$\alpha\beta_{ij}$ = efecto de la intersección (tratamiento x ensayo)

ϵ_{ijk} = efecto del error experimento.

Los tratamientos que se utilizaron en la presente investigación y que se los toma como factor A son:

No : sin nisina

N4 : 0.4% de Nisina

N6 : 0.6% de Nisina

N8 : 0.8% de Nisina

Además de los tratamientos el presente estudio se realizó en 2 ensayos consecutivos y que se los tomó como factor B están codificados de la siguiente manera:

E1 : Ensayo 1

E2 : Ensayo 2

Con la finalidad de procesar la información simultáneamente los dos ensayos se establece en el siguiente esquema que se describe en el cuadro 6.

Cuadro 6. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO.

Tratamientos	Ensayos	Código	Repeticiones	Kg Q./UE	Kg Q./Trat.
No	1	NoE1	5	3	15
No	2	NoE2	5	3	15
N4	1	N4E1	5	3	15
N4	2	N4E2	5	3	15
N6	1	N6E1	5	3	15
N6	2	N6E2	5	3	15
N8	1	N8E1	5	3	15
N8	2	N8E2	5	3	15
Total de Kg de Queso Fresco					120

En el cuadro 7, se describe el esquema del Análisis de Varianza

Cuadro 7. ESQUEMA DEL ADEVA.

Fuentes de variación	Grados de libertad
Total	39
Niveles de Nisina	3
Ensayo	1
Interacción (N x E)	3
Error del Experimento	32

E. MEDICIONES EXPERIMENTALES

Los parámetros experimentales evaluados fueron:

1. Análisis Físico v químico

- PH
- Proteína, %
- Grasa, %
- Sólidos Totales. %

2. Análisis microbiológico

- Estafilococos sp, UFC/g
- Echericha coli, UFC/g
- Salmonella, UFC/g

3. Análisis sensorial

- Color, 10 puntos
- Olor, 10 puntos
- Sabor, 35 puntos
- Apariencia , 15 puntos
- Textura , 30 puntos
- Total, 100 puntos

4. Rendimiento, kg

5. Beneficio Costo

F. ANALISIS ESTADÍSTICO Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA

Los análisis estadísticos para la presente investigación fueron:

- Análisis de Varianza ADEVA para las diferencias en variables
- Prueba de Tukey con un nivel de significancia ($P < 0.05$ - $P < 0.01$)
- Prueba de Rating test según Witting, E.(1981)
- Estadística Descriptiva (\bar{x} ,s) para la variable microbiológicas
- Análisis de correlación y regresión

G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Previa a la elaboración de los quesos se realizó el control de calidad de la leche en el momento de la recepción utilizando las siguientes pruebas de densidad y acidez y luego para la elaboración del queso fresco se utilizó el procedimiento a continuación descrito:

- Selección de leche fresca.
- Pasterización de la leche (68 °C)
- Enfriamiento a una temperatura de (38°C)
- Adición del cuajo
- Cortado de la cuajada

- Batido de la cuajada
- Desuerado del 70%
- Adición de agua caliente
- Segundo Batido
- Adición de la Nisina
- Salado
- Moldeado
- Prensado

1. Selección y pasteurización

Para la elaboración del queso fresco se escogió la leche fresca de buena calidad sin antibióticos, sin mastitis de buen color y olor. Para la pasteurización la leche destinada para este proceso, se lo pasteurizó calentándola a 68 °C este tratamiento térmico fue para inhibir la leche de microorganismos.

2. Enfriamiento y adición de cloruro de calcio

Una vez que la pasteurización alcanzó 68 °C, se inició el enfriamiento de la leche hasta 40 °C. La cantidad de cloruro de calcio que se añadió fue de 20cc por cada 100 litros de leche a 40°C de temperatura. La adición de calcio tuvo como finalidad principal la de recuperar el calcio desnaturalizado por efecto de la pasteurización. La adición de sales de calcio facilitan la coagulación ya que los iones de calcio forman puentes entre micelas de caseína, aumentando el tamaño de las partículas y por lo tanto disminuyendo el tiempo de coagulación dando mejor firmeza al coagulo y facilitando la salida del suero eliminando mejor la retención de materia grasa y otros sólidos.

3. Adición de cuajo

Se adicionó el cuajo líquido a una temperatura de 38°C (7 ml por cada 100 lt de leche). Antes de la adición del cuajo a la leche se tomó en cuenta varios factores

que influyeron en la elaboración de un buen queso, como fue se midió la cantidad exacta de cuajo que se añadió en función al volumen de leche que se cuajó y de acuerdo a indicaciones del fabricante. Se verificó que la temperatura sea la optima para que el cuajo actué. (38°). Posteriormente se agitó por un minuto, con mucho cuidado para evitar la formación de espuma, se detendrá la agitación y se dejara en reposo para que el cuajo actué. Luego se deberá tapar el recipiente para evitar la pérdida de calor.

4. Tiempo de cuajado

Es el periodo que transcurrió desde la adición del cuajo hasta el instante en que la cuajada adquiere la consistencia adecuada para realizar el desuerado (30 minutos). El final del cuajado puede determinarse por algunos procedimientos prácticos, entre los que se encuentran los siguientes.

- Se colocó el reverso de la mano sobre la superficie de la cuajada para apreciar la firmeza de esta. Cuando la leche coagulada ya no se adhiere a la piel, se considerara que su cohesión es suficiente y puede iniciarse el desuerado.
- Método del ojal: Consistió en introducir el dedo índice (o un cuchillo) en la cuajada y retirarlo lentamente, a fin de formar un pequeño promontorio que forma un ojal, por el cual exuda suero; este suero no debió contener partículas de caseína. lo que fue un indicativo de una coagulación incompleta.
- Se debió presionar un pequeño trozo de cuajada entre los dedos; el suero que escurre no debió estar turbio ni lechoso.

5. Cortado de la cuajada

El cortado de la cuajada tuvo el propósito de favorecer la eliminación del suero. Esta operación se realizara comúnmente con liras. La cantidad de desuerado, aumentara linealmente de acuerdo con el troceado, aunque existen limites; si este será muy intenso, las partículas de coagulo quedaran muy finas y retienen grandes cantidades de suero durante el prensado, el diámetro de los granos de la

cuajada oscila entre 2 mm y 3 cm. Se debió seguir de un pequeño reposo de 3 a 5 minutos luego se realizó una remoción de la cuajada adherida a las paredes de la marmita, son volteados con la ayuda de paletas de plástico.

6. Segundo corte y batido de la cuajada

Se realizara con mucha delicadeza, para evitar perdidas por pulverización de los granos. Para el batido de la cuajada inmediatamente despues del troceado o cortado se efectuara el batido de los granos de cuajada para acelerar y completar el desuerado, al renovar continuamente la superficie de exudación e impedir la adherencia de los granos y así evitar la formación de un amasijo que retiene el liquido. El batido se realizara generalmente con batidores. Además, el batido tiene un efecto beneficioso sobre los granos de cuajada, ya que ayuda a que se cierren las grietas que inicialmente presentan los granos recién cortados, que de esta forma alcanzara una estructura mas uniforme.

7. Desuerado, Lavado de la cuajada y segundo batido

Al finalizar el batido, se sacó el agitador o pala, y los granos de cuajada se depositaron rápidamente en el fondo por razón de su peso. Después se empezó a sacar parte del suero que no se necesita. Posteriormente se realizó el lavado de los granos de cuajada, que se efectuó poco después del troceado y del desuerado. El lavado servia para diluir los componentes del lacto suero y si es muy prolongado, puede eliminarse el liquido y el acido láctico que retienen los granos. El lavado se realizó generalmente con agua caliente (38°C) y sal (aproximadamente 1.76 lb. por caca 100 lt.). La lactosa es uno de los componentes que se extrajo con el lavado y por ello, disminuye la posibilidad de acidificación e inhibir el crecimiento de microorganismos. El segundo batido consistió en la agitación de la mezcla agua, suero, sal cuajada se recomienda para darle consistencia a los granos de cuajada y permitirle que la sal entre muy bien en todos los gránulos. Se aconseja batir por espacio de 5 minutos.

8. Desuerado y batido final

Una vez que las partículas de cuajada adquirieron una consistencia estable deseada, se procedió a la eliminación del suero. Para el batido final la agitación duró de acuerdo con el grado de desuerado; cuanto mas seco fue el grano, menor fue el tiempo de agitación. El punto final de la agitación se conoció al colocar una porción de granos entre los dedos y presionar; al dejar de ejercer presión, los granos debían recuperar su forma original.

9. Moldeado de los quesos, enmallado y prensado de los quesos

El moldeado tenía por objeto lograr que los granos de cuajada se suelden y formen piezas grandes. Existen varias formas y tamaños de moldes que proporcionan características muy especiales a los quesos. El enmallado consistió en poner mallas alrededor del queso para sostener la cuajada a prensarse. El prensado de los quesos tenía por objeto eliminar el suero sobrante; podrá realizarse por la presión que ejerce al aplicar una fuerza externa. Para quesos frescos el prensado durara 2 horas.

10. Adición de nisina

Consistió en adicionar la nisina, en la presente investigación se probó cual el nivel óptimo al (0,4 , 0,6, 0,8%) , la literatura nos recomienda de 100 a 200mg/

11. Salado y enfriamiento del queso

La salmuera es una mezcla de agua con sal 21° Bourn e, donde se sumergió los quesos. El tiempo de salado para quesos fresco fue de 2 horas. Se estableció el momento que se ha acabado su proceso de fermentación, midiendo su acidez, un promedio de 80 grados Dornick, si no se posee este equipo se puede saber con una simple observación, en los bordes del recipiente cuando comienza a salir una especie de liquido acuoso (no suero), por otro lado con la introducción de una cuchara podremos ver la consistencia de la masa. Luego depositaremos el queso

en el cuarto frío lo que ayuda a inhibir el crecimiento de microorganismos a una temperatura de 4 °C para su respectiva comercialización.

H. METODOLOGIA DE EVALUACION

1. Control de la acidez Titulable de la leche

Para el control se tomó 10ml de leche en un vaso de precipitación, en cuya muestra se colocó 3 gotas de fenolftaleína para titularla con una solución NaOH al 0.1N la leche para observar si presenta una acidez normal de 18 a 20°Dornic.

2. Determinación de la proteína bruta

Se sometió a un calentamiento y digestión una muestra problema con ácido sulfúrico concentrado, los hidratos de carbono y las grasas se destruyeron hasta formar CO₂ y agua, la proteína se descompuso con la formación de amoníaco, el cual intervino en la reacción con el ácido sulfúrico y formó el sulfato de amonio. Este sulfato en medio ácido es resistente y su destrucción con desprendimiento de amonio sucede solamente en medio básico; luego de la formación de sal de amonio actúa una base fuerte al 50% y se desprende el nitrógeno en forma de amoníaco, este amoníaco es retenido en una solución de ácido bórico al 2.5% y titulado con HCl al 0.1 N.

$$\% \text{ PB} = \frac{\text{N (HCl)} \times 0.014 \times 100 \times 6.25 \times \text{ml HCl reales}}{\text{W2-W1}}$$

Donde:

W1 = Peso del papel solo

W2 = Peso del papel + muestra.

3. Determinación de la humedad

Conocida también como humedad tal como ofrecido (TCO), y consistió en secar al alimento en la estufa a una temperatura de 60 a 65° C hasta obtener un peso constante, el secado tiene una duración de 24 horas Esta muestra posteriormente se llevó si el caso lo requiere. La formula para el calculo de esta variable fue :

$$\%HI = \frac{W2-W3}{W2 - W3} \times 100$$

Donde:

W1 = Peso de la funda sola .

W2 = Peso de la funda mas la muestra húmeda

W3 = Peso de la funda mas muestra seca

4. Determinación de la ceniza

Se llevó a cabo por medio de incineración seca y consistió en quemar la sustancia orgánica de la muestra problema en la mufla a una temperatura de 600° C , con esto la sustancia orgánica se combustionó y se formó el CO₂) agua , amoniaco y sustancia inorgánica se queda en forma de residuos, la incineración se lleva a cabo hasta obtener una ceniza color gris. Su formula fue:

$$\%C= \frac{W3-W1}{W2-W1}$$

Donde:

W1 = Peso del crisol solo

W2 = Peso del crisol mas muestra húmeda.

W3 = Peso del crisol mas ceniza

5. Determinación del extracto etéreo

Consistió en la extracción de la grasa de la muestra problema por la acción del dietiler y determinar así el extracto etéreo, solvente orgánico que se evaporó constantemente igual su condensación, al pasar a través de la muestra extrae materiales solubles. El extracto se recogió en un beaker y cuando el proceso se completó el éter se destiló y se recolectó en otro recipiente y la grasa cruda que se quedó en el beaker se seca y se pesa. Su formula fue:

$$\% \text{ EE} = \frac{W4-W3}{W2-W1}$$

Donde:

W1 = Peso del papel solo.

6. Determinación de la ceniza

Se llevó a cabo por medio de incineración seca y consistió en quemar la sustancia orgánica de la muestra problema en la mufla a una temperatura de 600° C , con esto la sustancia orgánica se combustionó y se formó el CO₂ agua , amoniaco y sustancia inorgánica se queda en forma de residuos, la incineración se lleva a cabo hasta obtener una ceniza color gris. Su fórmula es :

$$\%C = \frac{W3-W1}{W2-W1}$$

Donde:

W1 = Peso del crisol solo

W2 = Peso del crisol mas muestra húmeda.

W3 = Peso del crisol mas ceniza

7. Determinación del extracto etéreo

Consistió en la extracción de la grasa de la muestra problema por la acción del dietiler y determinar así el extracto etéreo, solvente orgánico que se evaporó constantemente igual su condensación, al pasar a través de la muestra extrae materiales solubles. El extracto se recogió en un beaker y cuando el proceso se completó el éter se destiló y se recolectó en otro recipiente y la grasa cruda que se quedó en el beaker se secó y se pesa. Su formula fue:

$$\% \text{ EE} = \frac{W4-W3}{W2-W1}$$

Donde:

W1 = Peso del papel solo.

W2 = Peso del papel mas muestra. W3 = Peso del vaso solo. W4 = Peso del vaso mas EE

8. Valoración organoléptica

Para la valoración organoléptica se realizó seleccionando un panel de catadores con sus respectivos registros de valoración separados por biombos donde se realizaran las siguientes actividades:

- Estricta individualidad entre panelistas para evitar influencias entre los mismos.

- No haber ingerido bebidas alcohólicas.
- Disponer a la mano de agua para equiparar los sentidos
- Valorar las muestras a través de los sentidos desde insuficiente hasta Muy bueno con sus respectivos valores

V. RESULTADOS Y DISCUSION

A. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICA DEL QUESO FRESCO ELABORADO CON LA ADICIÓN DE DIFERENTES NIVELES DE NISINA COMO ANTIBIÓTICO

1. pH

En el análisis de varianza de los valores medios del pH, se determinó diferencias altamente significativas, ($P < 0.003$), entre las medias de los tratamientos por efecto del nivel de nisina aplicado al queso fresco, como se reporta en el cuadro 8 y grafico 1, registrándose los valores más altos con la adición de 0.6 % de nisina (T2), con 7,21 y que compartieron rangos de significancia con los quesos elaborados con la incorporación de 0.8 % de nisina (T3), con medias de 7,20, mientras que al utilizar 0.4 % de nisina (T1), el pH desciende a 7,14 , en comparación del tratamiento control en el que no se adicionó nisina (T0) y que registró el pH más bajo de la investigación que fue de 7,06 muy cercano a la neutralidad. Al comparar estos resultados con la exigencias de calidad del Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización, INEN 1996, en su Norma Técnica 1564, que infiere valores de pH de 5,3 podemos ver que al adicionar la nisina este se eleva pero sin provocar detrimento en las características físico químicas del producto, ya que no supera el límite de la neutralidad (7 – 7,5).

Lo que puede deberse a lo manifestado por Alonso, D. (2002), que indica que el control del pH es muy importante en la elaboración de los productos alimentarios, tanto como indicador de las condiciones higiénicas como para el control de los procesos de transformación. El pH, como la temperatura y la humedad, son importantes para la conservación de los alimentos, específicamente el queso

fresco. De ahí que generalmente, disminuyendo el valor de pH de un producto, aumente el período de conservación. El queso fresco se caracteriza por ser un producto poco fermentado, aunque ligeramente ácido, muy líquido (actividad del agua de 0,9), con un bajo porcentaje de sal (menor al 3%) y con un potencial de

Cuadro 8. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICA DEL QUESO FRESCO ELABORADO CON LA ADICIÓN DE DIFERENTES NIVELES DE NISINA COMO ANTIBIÓTICO.

VARIABLE	NIVELES DE NISINA (%)								CV	\bar{x}	Sx	Prob	Sign
	0.4 %		0.6 %		0.8 %		T3						
	T0		T1		T2		T3						
pH	7,06	c	7,14	b	7,21	a	7,20	a	1,64	7,15	0,04	0,003	**
CONTENIDO DE GRASA, %.	39,21	a	30,95	b	31,74	b	36,77	ab	8,11	34,67	0,89	0,004	**
CONTENIDO DE PROTEÍNA, %.	15,15	b	17,77	a	16,52	ab	14,36	c	14,47	15,95	0,73	0,002	**
CONTENIDO DE SÓLIDOS, %.													
TOTALES, %.	5,61	a	4,22	b	4,23	b	4,13	c	6,32	4,55	0,09	0,003	**

Fuente: Aguirre, C. (2011).

CV: coeficiente de variación.

\bar{x} : media general.

Sx: Error típico de las medias.

Prob: probabilidad.

Sign: significancia.

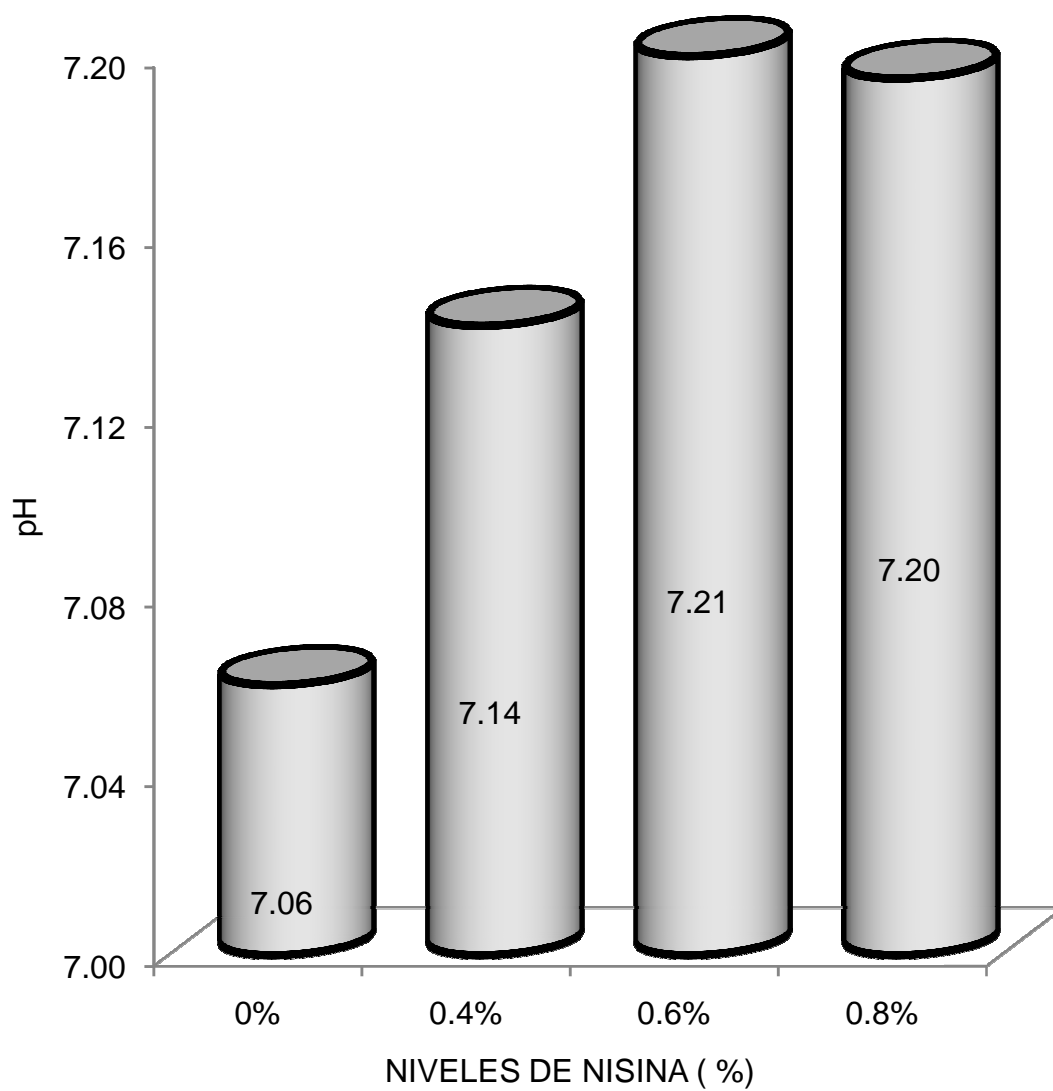


Gráfico 1. Comportamiento del pH del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

óxido-reducción La coagulación láctica o ácida es realizada por las bacterias lácticas presentes en la leche cruda o procedentes del fermento, que transforman la lactosa en ácido láctico haciendo descender el pH de la leche, lo que produce la alteración de la caseína hasta la formación de un coágulo. Las bacterias al trabajar en la leche aumentan su acidez y provocan la disminución del pH al adicionar la nisina estamos provocando una inhibición de la actividad bacteriana por ende la acidez provocada por las mismas no es tan marcada lo que produce un aumento del pH, y que favorece a que el queso no se fermente y que se alargue su vida útil. Al realizar el análisis de regresión que se ilustra en el gráfico 2, se determinó una tendencia cuadrática altamente significativa ($P < 0.01$), con una ecuación para el pH = $7.06 + 0.58x - 0.56x^2$, la que nos indica que por cada unidad porcentual de cambio del nivel de nisina empleado en la elaboración del queso fresco existe un incremento del pH de 0.58% hasta llegar al nivel 0.4 % (T2), el mismo que desciende al incluir niveles más altos de nisina (0.6 %), en razón de 0.56%, con un coeficiente determinación R^2 de 94.85%, en tanto que el 5,155 restante depende de otros factores no considerados en la investigación .

El efecto de los ensayos sobre el pH del queso fresco elaborado con nisina a diferentes niveles no reportó diferencias estadísticas entre medias ($P < 0,76$), únicamente se registró cierta superioridad numérica en el queso del segundo ensayo con 7,20 en tanto que en los quesos del primer ensayo las medias fueron de 7,19, que se ilustra en el gráfico 3. Lo que puede deberse a que en el desarrollo de la investigación se fue adquiriendo mayor experiencia en la elaboración del queso y es por eso que los mejores resultados fueron en la segunda réplica además puede que aleatoriamente la calidad de la materia prima (leche), fue de mejor calidad, pero sin embargo al no existir diferencias estadísticas se puede identificar que se estandarizo tanto los procesos de producción como los productos y se comprueba que la influencia sobre la calidad del queso únicamente la registra el efecto de los niveles de nisina.

En el análisis de varianza de la interacción entre los diferentes niveles de nisina y los ensayos se registraron diferencias altamente significativas ($P < 0,001$), con una media general de las medias de 0.05, observándose que con la aplicación del

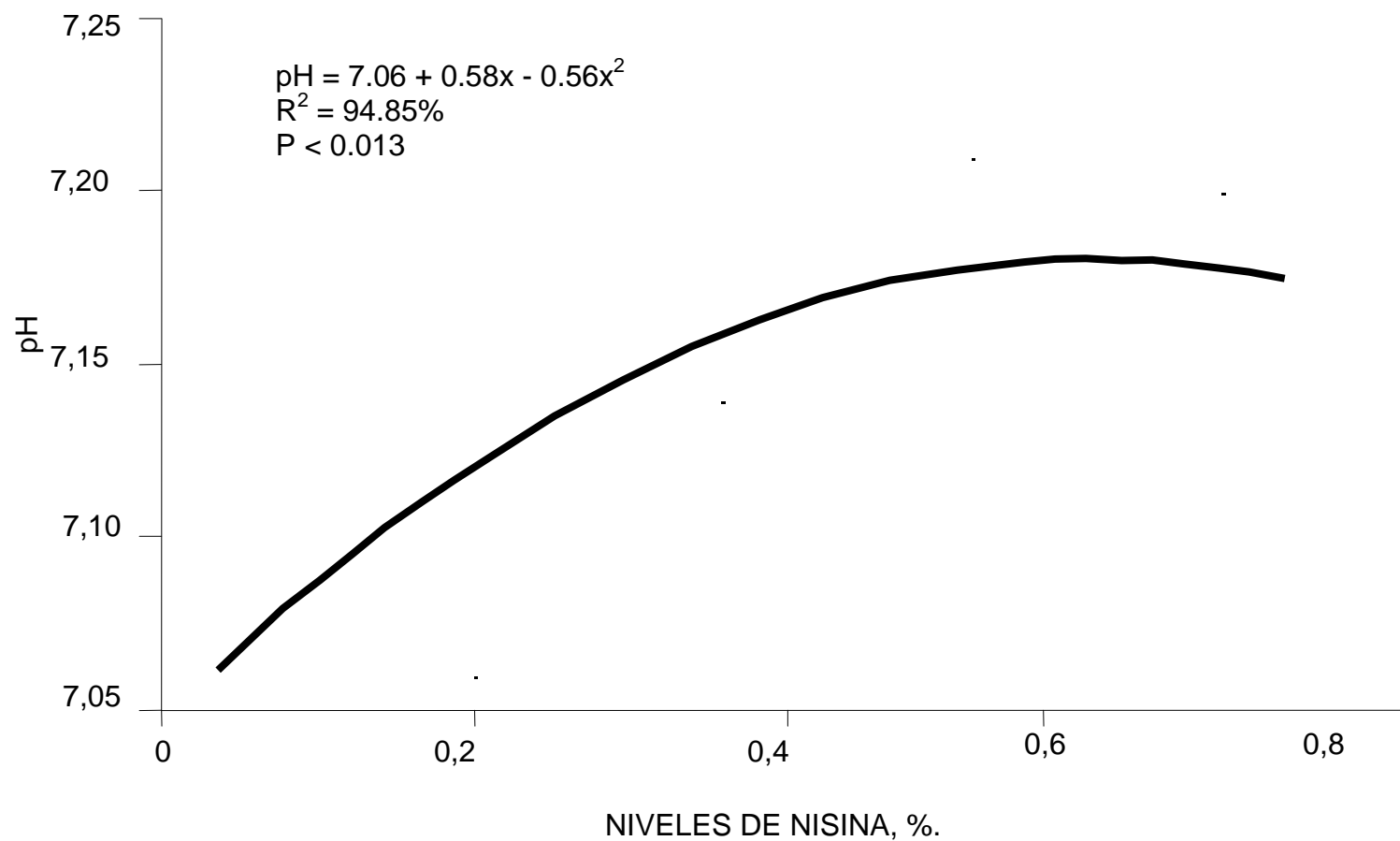


Gráfico 2. Regresión del pH del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

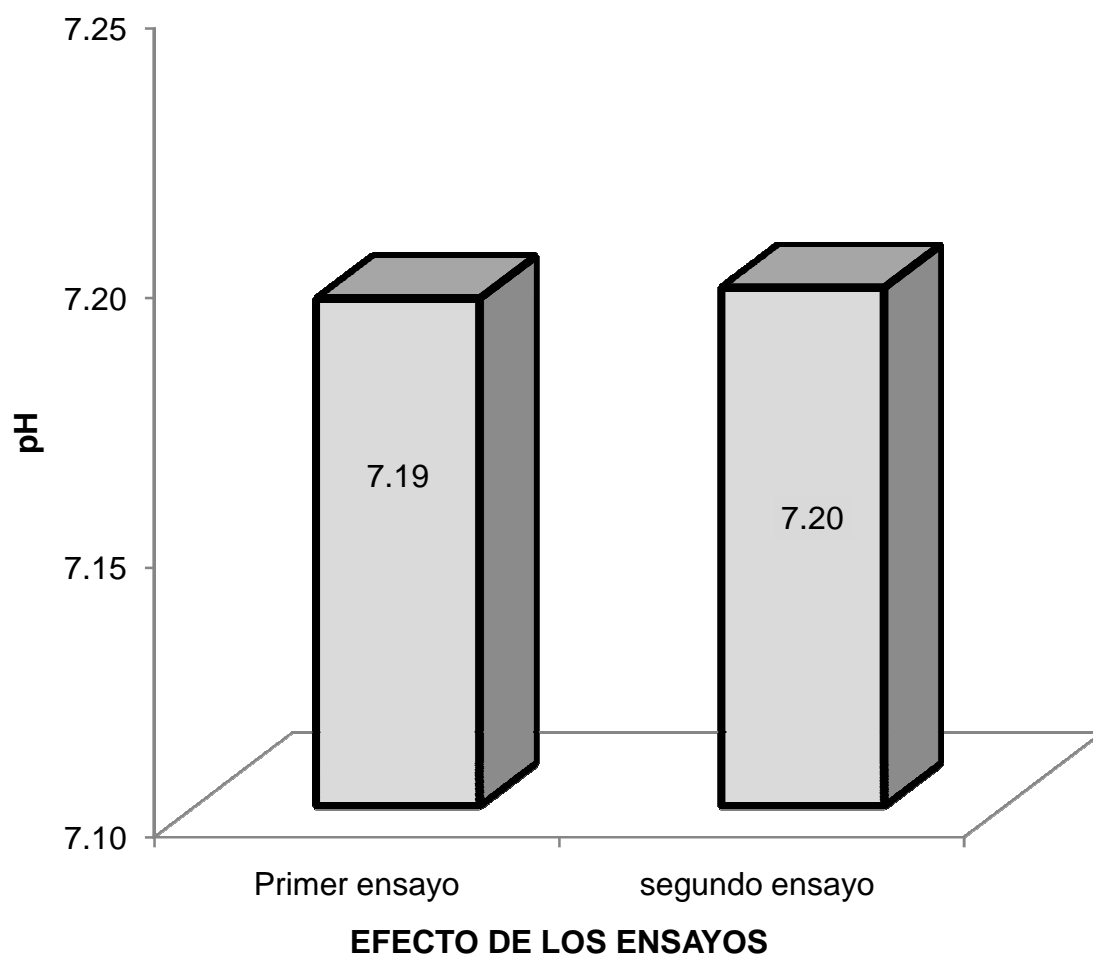


Gráfico 3. Comportamiento del pH del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico, por efecto de los ensayos .

tratamiento T1 en el primer ensayo se registra en valor más alto de pH y que corresponde a 7,28 el cual desciende con la aplicación del tratamiento T2 en el primero y segundo ensayo (7.20 y 7.23 respectivamente), al igual que en el tratamiento T3 en el primero y segundo ensayo (7.19 y 7.20 en su orden), mientras que el pH más bajo fue registrado en el lote de quesos del tratamiento control en el primer ensayo con 6.98 y que no difieren estadísticamente de los quesos del tratamiento control en el segundo ensayo (7.14) y en el tratamiento T1 en el segundo ensayo (7,0). De acuerdo a los reportes antes mencionados se puede deducir que al aplicar nisina en bajos niveles los quesos se acercan más a la neutralidad creando un ambiente óptimo para el desarrollo de las bacterias benéficas que permiten la fermentación normal del queso fresco en un periodo de tiempo más prolongado y que se debe a la actuación de la nisina que como antibiótico inhibe la proliferación de bacterias perjudiciales responsable de la rápida descomposición del producto

2. Contenido de grasa

El contenido grasa medio del queso fresco registro diferencias altamente significativas ($P < 0,004$), por efecto del nivel de nisina aplicado, reportándose un coeficiente de variación de 8,11% , que es indicativo de una cierta homogeneidad en la dispersión de los datos experimentales, presentándose los valores más altos con la aplicación del tratamiento control con 39,21% y que compartieron rangos de significancia con los quesos del tratamiento T3 con 36,77% en tanto que el tenor grasa más bajo fue el registrado por los quesos del tratamiento T1 con 30,95 y que compartieron el mismo rango de significancia que el queso del tratamiento T2 con 31.74, como se ilustra en el gráfico 4, lo que nos permite estimar que la nisina registra un mejor efecto a bajos niveles ya que el queso fresco producido presenta un mayor contenido de grasa, y que además son superiores a las exigencias de calidad de la Food and Agricultural (FAO), en el 2002 que infiere como mínimo 24% de grasa.

Lo que puede deberse a lo manifestado por Frankel, R. (1999), que indica que el queso fresco comparte casi las mismas propiedades nutricionales que la leche,

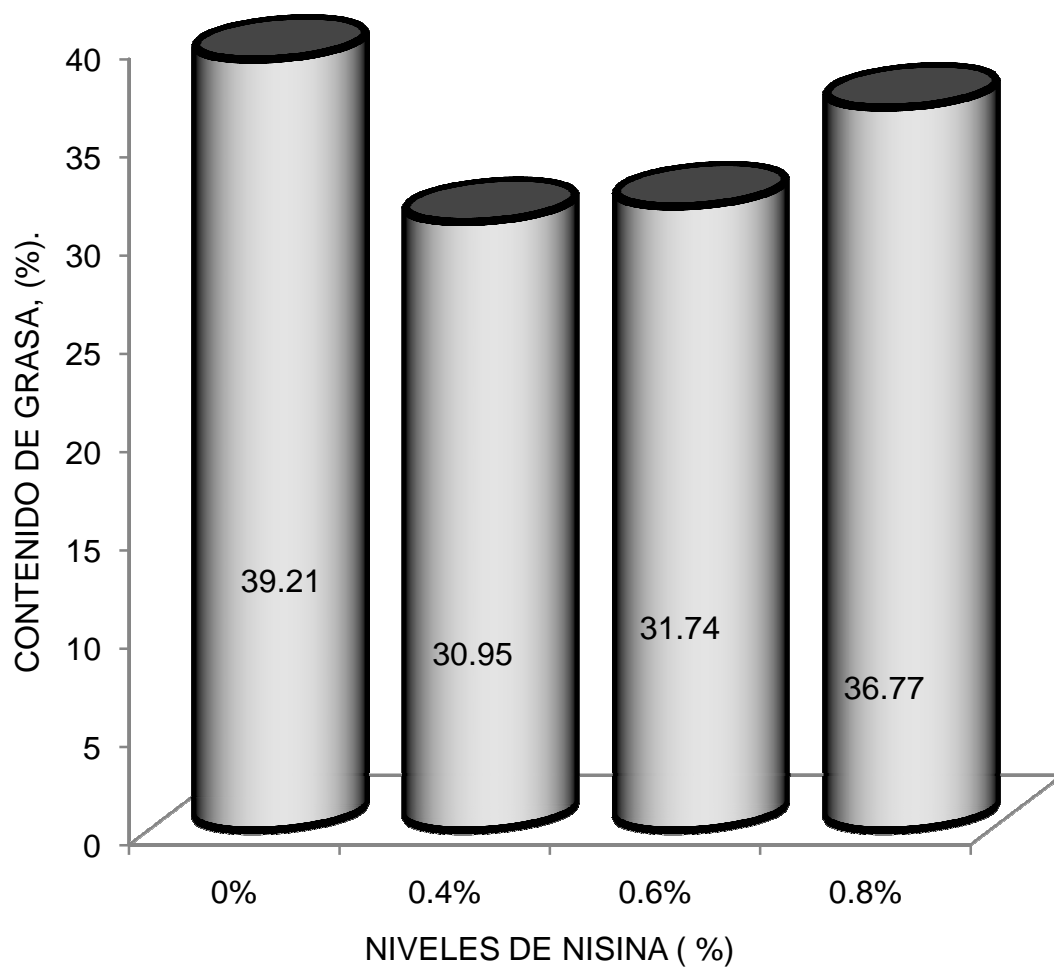


Gráfico 4. Comportamiento del contenido de grasa del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

excepto que contiene más grasas y proteínas concentradas. En cuanto a su contenido graso, la cantidad es variable, ya que aunque por lo general se trata de variedades de bajo contenido graso. Algunos de ellos se elaboran con leche y nata, por lo que su contenido de grasas y valor calórico se incrementan de modo considerable. Así mismo pueden llevar como ingredientes adicionales: sal, azúcar o especias, así como diversos aromatizantes o cualquier tipo de antibiótico. Al cotejar los resultados obtenidos con los reportes de la investigación de Castro, G, (2009), quien al realizar la comparación del empleo de nisina y cultivos de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* para la biopreservación de queso fresco, infiere un contenido de grasa (% g/g) de $19,90 \pm 0,74$, podemos ver que son superiores y que pudieron deberse a la calidad de la materia prima como es la leche, la raza del animal de donde proviene, o a las condiciones climáticas de la región de producción que en nuestro caso es la serranía ecuatoriana y en los datos cotejados es en la zona baja de Venezuela.

En la ilustración del gráfico 5, podemos verificar una línea de tendencia cuadrática altamente significativa en la que la ecuación para el contenido de grasa = $38.97 - 53.10x + 83.06 x^2$, la que define una tendencia inicial a decrecer el contenido de grasa a un equivalente 53.10 por cada unidad porcentual de aumento en el nivel de antibiótico (nisina), en el queso fresco, para posteriormente cuando se supera los niveles de nisina en 0.4 y 0.6 % elevarse la grasa en 83.06. El coeficiente de determinación nos indica un valor porcentual de 92.68%, en tanto que el 7,32% restante depende de otros factores no considerados en la presente investigación, que tienen que ver con la calidad de materia prima, (leche).

En el análisis del efecto de los ensayos sobre la evaluación del contenido de grasa de los quesos frescos elaborados con diferentes niveles de nisina se pudo identificar diferencias altamente significativas ($P < 0.006$), entre las medias de los tratamientos (grafico 6), observándose una media general de 34.67%, y además los contenidos más altos en los quesos del segundo ensayo (E2), con 39.17% y los más bajos contenidos grasos fueron los reportados en los quesos del primer ensayo con 34.37%. Las diferencias registradas entre los ensayos pese a que fueron desarrolladas en un ambiente controlado y de acuerdo a las sugerencias

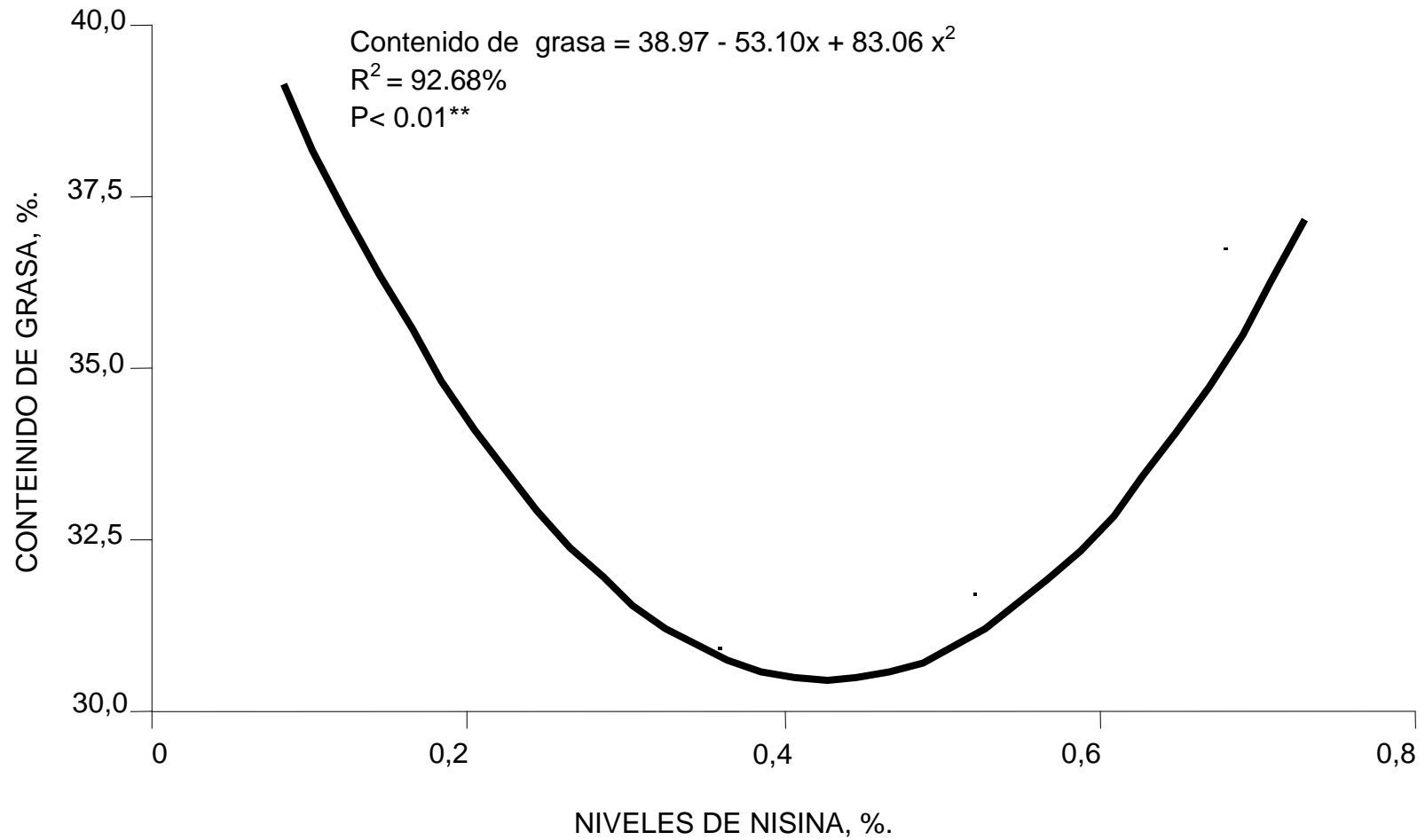


Gráfico 5. Regresión del contenido de grasa del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

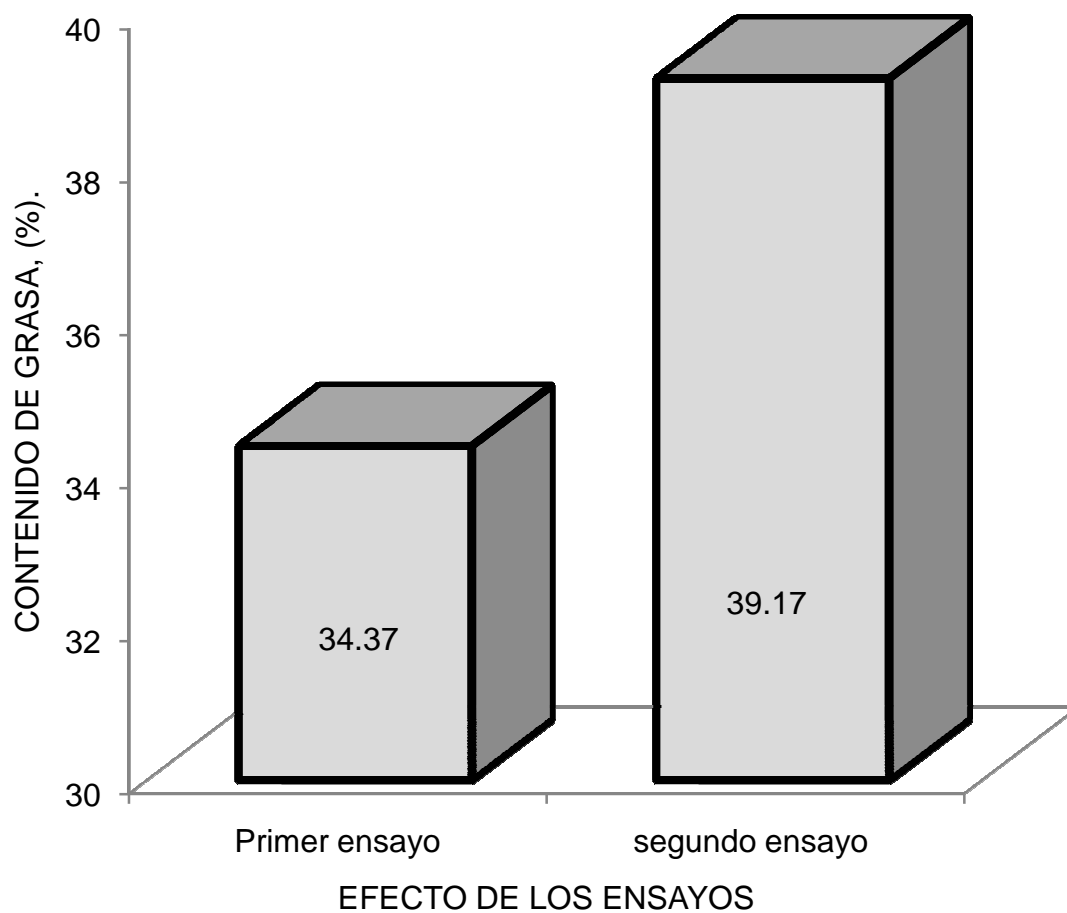


Gráfico 6. Comportamiento del contenido de grasa del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico, por efecto de los ensayos.

del Director, se debieron según <http://www.consumaseguridad.com>.(2003), a que el queso fresco es un alimento sólido elaborado a partir de la leche cuajada de vaca que es la más común debido a las propiedades que posee, a su producción y su variable contenido de grasa que en muchas veces tiene influencia la raza del animal y el tipo de alimentación. El efecto de los ensayos sobre el contenido graso se indica en el cuadro 9.

El efecto registrado por la interacción entre los niveles de nisina y los ensayos consecutivos sobre el contenido de grasa registraron diferencias altamente significativas, reportándose los resultados más altos en los quesos del tratamiento T1 en el primer ensayo, con 40,18, y que desciende a 39.84% (T0E1), 39.17% (T3E2), 38,60% (T2E1) y 38.59% (T0E2), en tanto que el contenido graso más bajo fue registrado en los cueros del tratamiento T1 en el segundo ensayo (T1E2), y que compartieron rangos de significancia con los quesos del tratamiento T2 en el segundo ensayo (24,89.%). Identificándose que los más bajos niveles de nisina, propenden a la producción de quesos con mayor contenido graso que puede deberse a que es un antibiótico originado por cepas de la bacteria que normalmente corta la leche, el *Streptococcus lactis*, se presenta en la leche ácida y en el queso fresco ayuda al aglutinamientos de los gránulos de grasa.

3. Contenido de proteína

Las medias del contenido de proteína del queso fresco presentaron diferencias altamente significativas ($P > 0.002$) por efecto de los niveles de nisina empleados, como se ilustra en el grafico 7, por cuanto se registraron los mayores contenidos de proteína que fueron de 17,77% cuando se utilizó el nivel 0.4 % (T1), y que descendió a 16,52% con el empleo del nivel 0.6 % de nisina (T2) , en comparación de los quesos del grupo control (T0), en los que no se incorporó este tipo de antibiótico que registraron medias de 15,15%, con las que compartieron rangos de significancia según Tukey ($P < 0,05$), en tanto que el contenido proteico más bajo fue el registrado en los quesos con mayores niveles de nisina (0.8 %), con promedios de 14,36% ratificándose por tanto que el empleo de niveles bajos de nisina eleva las características nutritivas del queso,

Cuadro 9. EVALUACION DE LAS CARACTERISTICAS FISICO QUIMICAS DEL QUESO FRESCO ELABORADO CON LA ADICIÓN DE DIFERENTES NIVELES DE NISINA COMO ANTIBIÓTICO, POR EFECTO DE LOS ENSAYOS.

VARIABLE	ENSAYOS		Media	\bar{x}	Prob.	Sign.
	Primer ensayo	Segundo ensayo				
	E1	E2				
pH	7,19 a	7,20 a	7,15	0,04	0,76	ns
CONTENIDO DE GRASA, %.	34,37 b	39,17 a	34,67	0,89	0,006	**
CONTENIDO DE PROTEINA, %.	14,31 a	14,41 a	14,47	0,73	0,31	ns
CONTENIDO DE SOLIDOS TOTALES, %.	4,16 a	4,11 a	4,55	0,09	0,34	ns

Fuente: Aguirre, C. (2011).

\bar{x} : Media general.

Sx: Error típico de las medias.

Prob: Probabilidad.

Sign: Significancia. Ns: promedios con letras iguales en la misma fila no difieren estadísticamente según Tukey (P< 0.01).

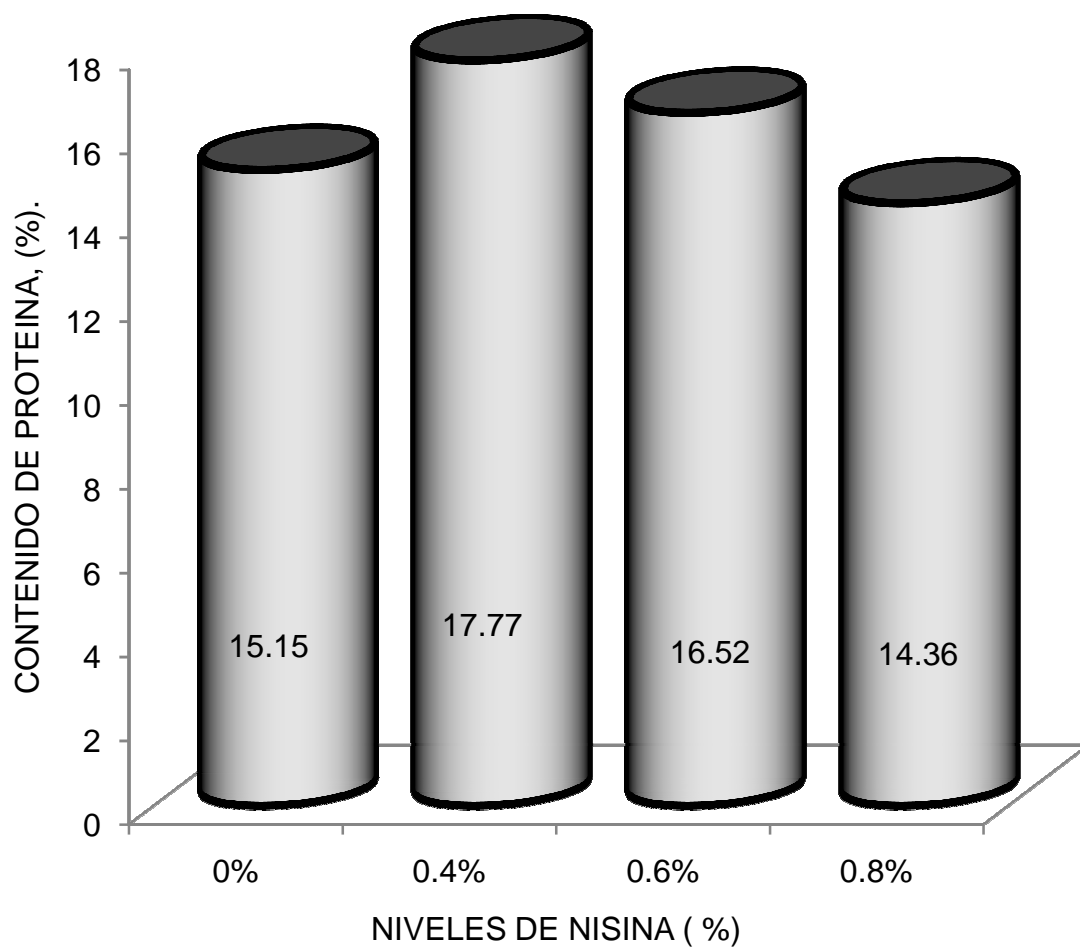


Gráfico 7. Comportamiento del contenido de proteína del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

en lo que es proteína, por cuanto según <http://www.nutricionyrecetas.com>.(2009), la función de estos productos es evitar el deterioro de los alimentos causado por el ataque de diferentes tipos de microorganismos (bacterias, levaduras y mohos). Comparando los resultados obtenidos con las informaciones de La Fundación Grupo Eroski. (2003) y <http://www.consumer.es>. (2009), quienes indican que en el queso fresco el contenido de proteínas debe ser mínimo 18%, los valores encontrados son ligeramente inferiores a estos reportes, que puede deberse a las características químicas de las materias primas utilizadas, como lo enuncia González, M (2002), en que la composición del queso fresco depende enteramente del contenido de humedad y de las materias primas utilizadas en su fabricación, ya que durante el proceso de fermentación, al perderse humedad hay una mayor concentración de nutrientes y entre estos la proteína, que es enriquecida con la incorporación de nisina que es un polipéptido producido por algunas especies de *Lactococcus lactis*.

Estos biocompuestos funcionan como antibióticos de reducido espectro ya que tienden a dañar solo a los microorganismos similares a las bacterias que los producen. Es un conservante natural altamente eficaz para los alimentos y es totalmente atóxico. La nisina posee actividad antimicrobiana frente a un amplio rango de microorganismos Gram Positivos, particularmente los esporulados. Tiene capacidad inhibitoria frente a ciertas cepas patógenas de los alimentos, tales como *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus hemolyticus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus stearothermophilus*, entre otros. Al cotejar los resultados obtenidos con los señalados por Pérez, A. (2001), quien al elaborar queso Andino Cb fueron de 17.48 a 18.24 % por efecto de los niveles de Antibut, por lo que en base a estas diferencias, se puede indicar que son inferiores y que puede deberse a que la composición de los quesos varía de acuerdo al tipo y a los procedimientos de elaboración.

Al realizar el análisis de regresión que se ilustra en el gráfico 8, se determinó una tendencia cuadrática altamente significativa ($P < 0.001^{**}$), con una ecuación para proteína = $15.30 + 16.11x - 29.87x^2$, la que determina que por cada unidad porcentual de cambio del nivel de nisina empleado en la formulación del queso

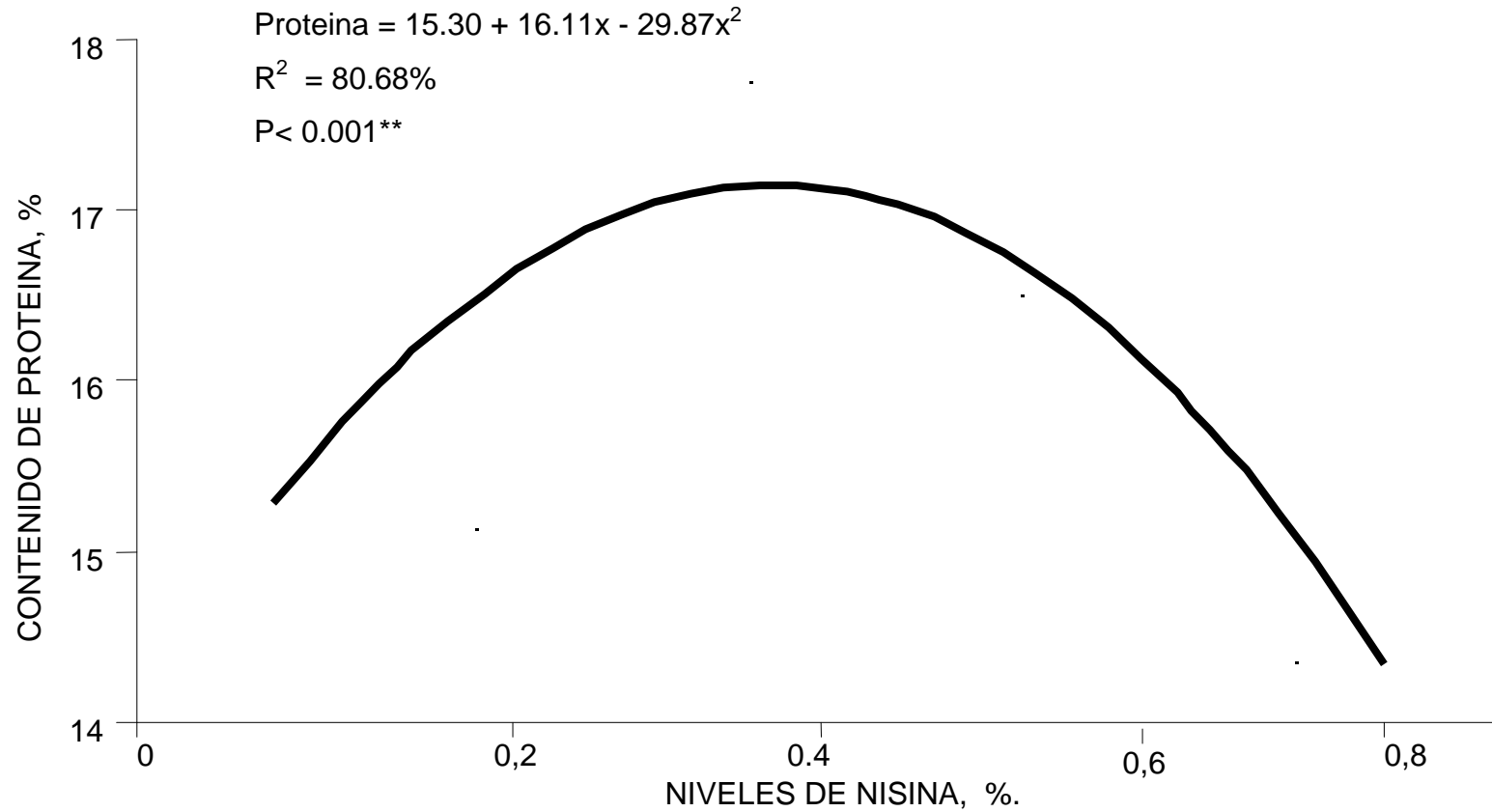


Gráfico 8. Regresión del contenido de proteína del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

fresco existe un incremento de la proteína a razón de 16.11%, para luego decrecer en 29.87% al incluir mayores niveles de nisina con un coeficiente de determinación (R^2) = 80.68%, que nos permite aseverar que existe una influencia alta por parte de la variable independiente (nivel de nisina) sobre la variable dependiente (proteína), en la formulación del queso fresco.

El efecto de los ensayos en el queso fresco con diferentes niveles de nisina sobre el contenido de proteína no registro diferencias estadísticas ($P < 0,31$), entre medias como se ilustra en el grafico 9, únicamente se registro superioridad numérica en los quesos del segundo ensayo con 14,41% de proteína, en tanto que los valores más bajos fueron los reportados en el primer ensayo con 14,31% . Estableciéndose que las diferencias registradas únicamente pueden deberse a la calidad de la materia prima y a la precisión tanto en la los procesos de producción del queso fresco como en la dosificación de la materia prima.

En la evaluación del contenido de proteína por efecto de la interacción de los niveles de nisina con los ensayos consecutivos se registraron diferencias altamente significativas ($P < 0.007$), registrándose los valores más altos en los quesos del tratamiento T1 en el segundo ensayo (T1E2), con un contenido d proteína de 20,19% mientras que los valores más bajos fueron reportados en los quesos del tratamiento T3 en el primer ensayo (T3E1) con 14.31%, en tanto que valores intermedios fueron registrados en los cueros del tratamiento control en el primero y segundo ensayo (T0E1 y T0E2), con 15,78% y 14,53% de proteína. Finalmente hay que tener en cuenta que en los últimos años los quesos blancos frescos han estado involucrados en brotes de enfermedades transmitidas por alimentos, atribuible principalmente al empleo de leche cruda como materia prima, a deficientes condiciones higiénicas durante la manufactura, transporte y almacenamiento, lo que aunado a las condiciones intrínsecas del producto, tales como su pH y actividad de agua, favorecen la subsistencia y multiplicación de los microorganismos presentes en el queso reduciendo así la vida útil del producto, por lo que se ha investigado sobre el uso de la nisina como antibiótico para prevenir estas consecuencias negativas y favorecer el consumo de este tipo de producto sin ningún problema.

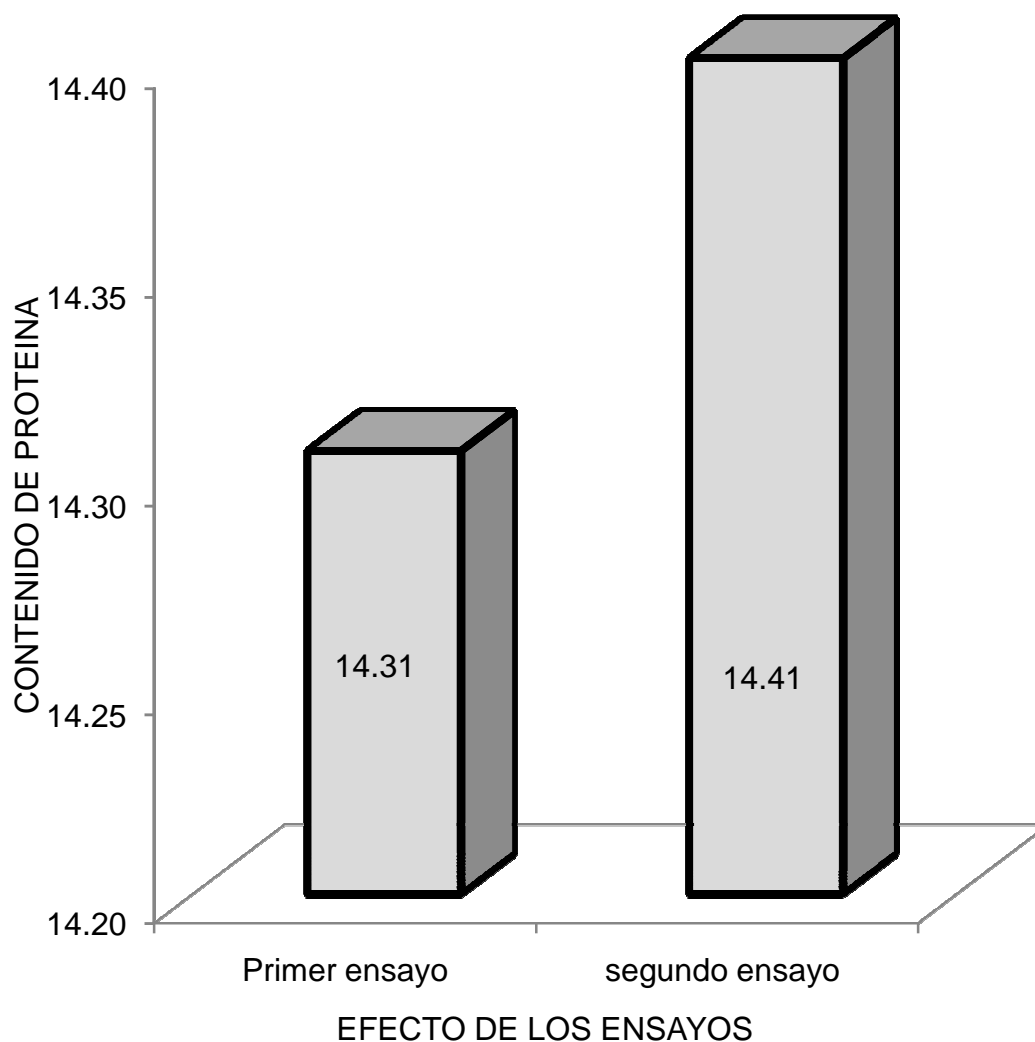


Gráfico 9. Comportamiento del contenido de proteína del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico, por efecto de los ensayos.

4. Contenido de sólidos totales

En el análisis de varianza del contenido de sólidos totales del queso fresco se registraron diferencias altamente significativas ($P < 0,003$), por efecto de los niveles de nisina aplicados, reportándose el mayor contenido de sólidos en los quesos del tratamiento control con 5,61% , seguido de los quesos del tratamiento T1 y T2 con medias de 4.22% y 4.23% y que además compartieron rangos de significancia según Tukey ($P < 0.05$), mientras que los promedios más bajos fueron registrados en los quesos del tratamiento T3 con 4.13%, como se ilustra en el gráfico 10, determinándose según el análisis de los reportes antes descritos que la nisina a bajos niveles contribuyen al incremento del contenido de sólidos totales lo que puede deberse a lo manifestado por Madrid, A. (1999), que indica que en la elaboración del queso fresco se produce la destrucción de microorganismos patógenos perjudiciales para la salud del consumidor. Este es el fin primordial por el que se desarrollo la pasterización, como también la reducción del número total de bacterias presentes, con lo que se puede prolongar su periodo de consumo y utilización y que es reforzado por la incorporación de la nisina.

Al cotejar los resultados con los reportes de Mayer. M. (2000), que infiere contenidos de sólidos totales de 5,4% podemos ver que son ligeramente superiores a los de la investigación y que pueden ser por efecto del contenido nutricional de la leche o de las características de la nisina, y es necesario tener en cuenta que los resultados son los más favorables ya que al utilizar bajos niveles de este antibiótico supera uno de los inconvenientes que tiene el uso de nisina

Mediante el análisis de regresión que se ilustra en el gráfico 11, se pudo determinar una tendencia cuadrática altamente significativa con una ecuación para sólidos totales = $5.53 - 7.05x + 8.06x^2$, que indica que partiendo de un intercepto de 5.53 uncialmente el contenido de sólidos totales decrece en 7.05% por cada unidad de cambio del nivel de nisina para luego incrementarse en 8.06% al incorporarse niveles superiores a 0.4 %de nisina con un coeficiente de determinación R^2 de 77.37% en tanto que el 22,63% restante depende de otros factores no considerados en la presente investigación.

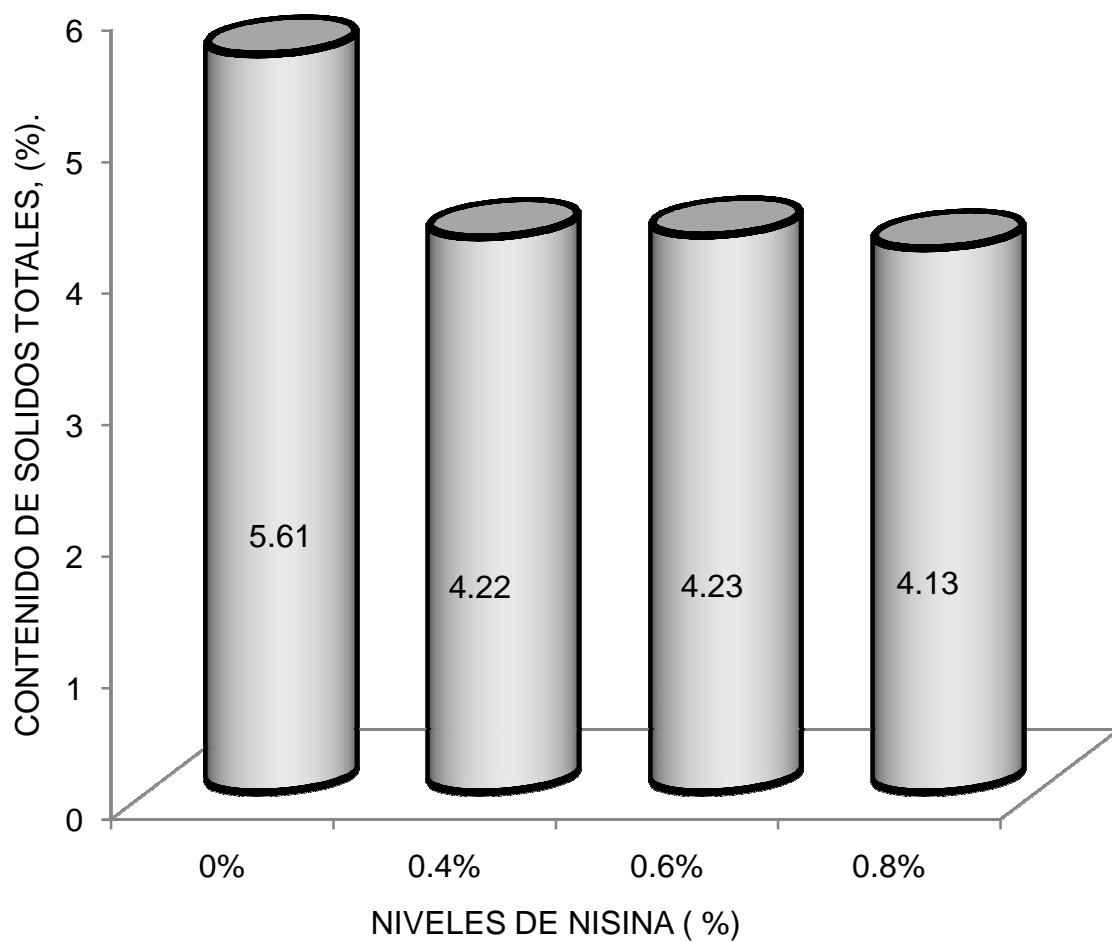


Gráfico 10. Comportamiento del contenido de sólidos totales del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

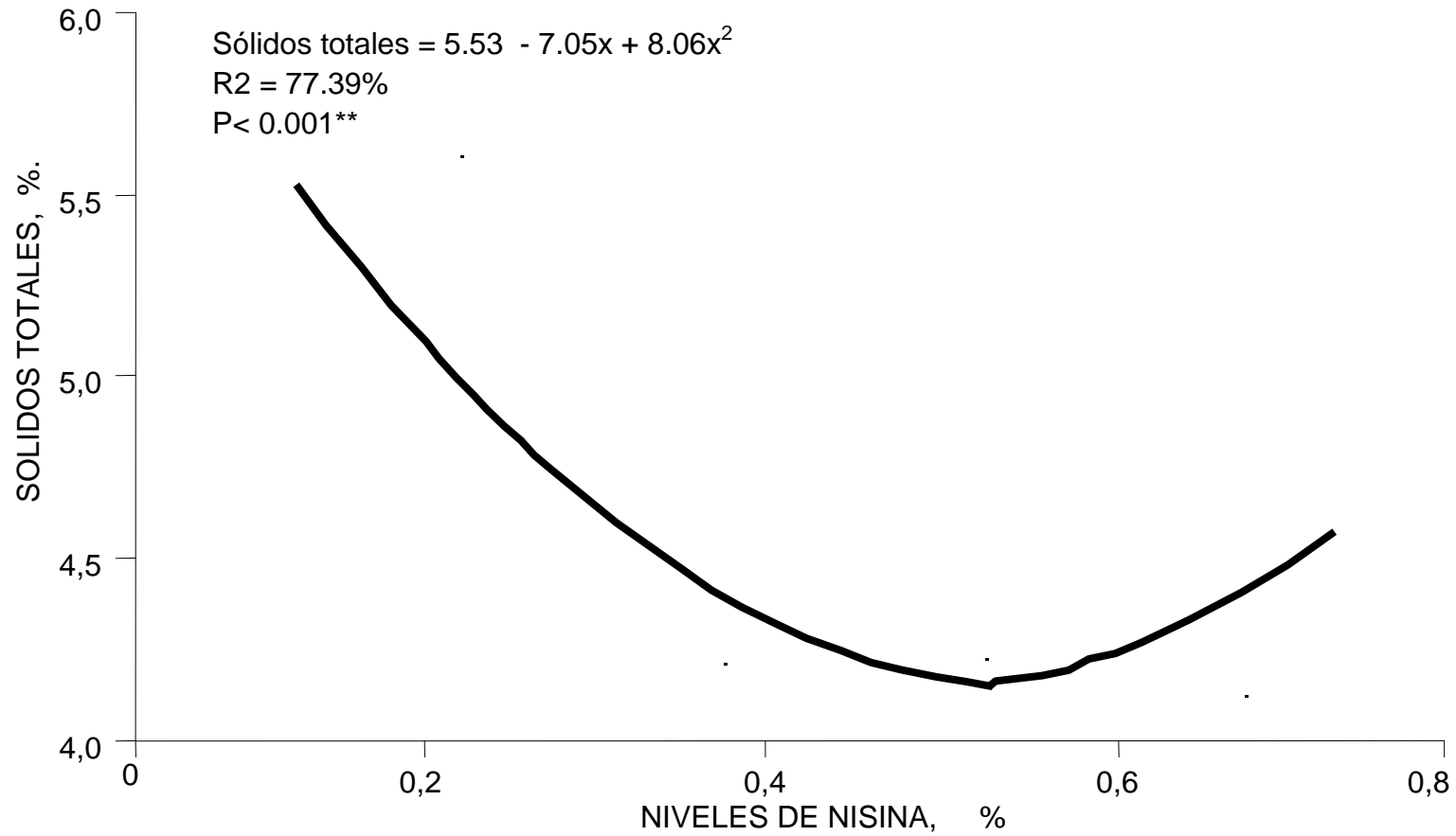


Gráfico 11. Regresión del contenido de sólidos totales del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

como aditivo en alimentos es su elevado costo como materia prima, por lo que la utilización de cultivos microbianos productores de bacteriocinas, puede ser una alternativa prominente para mejorar la calidad e inocuidad de los alimentos manteniendo bajos los costos de producción.

En el análisis de los valores medios del contenido de sólidos totales del queso fresco elaborado con nisina a diferentes niveles no se registraron diferencias estadísticas entre las medias de los tratamientos, ($P < 0,30$), aunque numéricamente se puede evidenciar una cierta superioridad en los quesos del primer ensayo con medias de 4,16% en comparación con los quesos del segundo ensayo que presentaron un contenido de sólidos totales mas bajo y que corresponde a 4,11%, como se ilustra en el gráfico 12. Pudiendo afirmar que en el primer ensayo aleatoriamente se ubicaron las materias primas de mejor calidad como también en el proceso de producción se exigió mayor precisión para obtener un producto de mejor calidad que se refleja en un mayor contenido nutricional.

Los valores medios del contenido de sólidos totales del queso fresco por efecto de la interacción entre el nivel de nisina aplicado y los ensayos consecutivos registraron diferencias altamente significativas entre las medias de los tratamientos registrándose los valores mas altos en los quesos del grupo control tanto en el primero como en el segundo ensayo (T0E1 y T0E2), con medias de 5,59% y 5,63% respectivamente, seguido de los quesos del tratamiento T2 en el segundo ensayo (T2E2), con medias de 4.60%, además se pudo observar que entre los quesos del tratamiento T1 en el primero y segundo ensayo compartieron rangos de significancia según Tukey ($P < 0.05$) con valores medios de 4,24 y 4.20%, mientras que el contenido de sólidos totales más bajo fue el registrado por los quesos del tratamiento T3 en el primero y segundo ensayo con medias de 4.16 y 4,11%. Permitiendo el análisis antes descrito afirmar que los mejores resultados son los registrados en el grupo control pero no es un indicativo que es la mejor opción para la elaboración de queso fresco ya que al contener demasiados sólidos puede desmejorarse las calificaciones sensoriales como son especialmente la textura y el sabor.

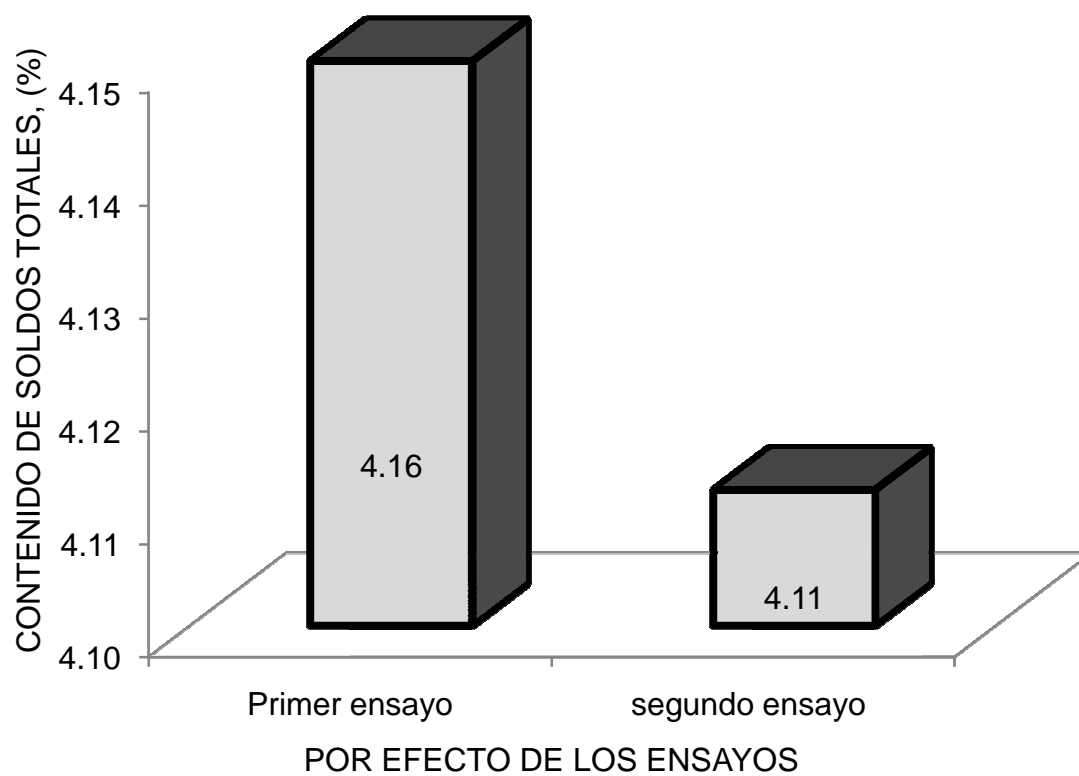


Gráfico 12. Comportamiento del contenido de sólidos totales del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico, por efecto de los ensayos.

B. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DEL QUESO FRESCO ELABORADO CON LA ADICIÓN DE DIFERENTES NIVELES DE NISINA COMO ANTIBIÓTICO

1. *Staphylococcus Aureus*

Con respecto a la presencia de *Staphylococcus Aureus* en el queso fresco elaborado con diferentes niveles de nisina, se registraron diferencias altamente significativas ($P < 0.0004$) entre medias, presentando el mayor contenido de bacterias en el queso del tratamiento T2 con 164,20 UFC/g, en comparación del queso del tratamiento T3, en donde no existió la presencia de bacterias, mientras que contenidos intermedios se evidenciaron en los tratamientos control y T1 con 6.50 y 45.30 UFC/g, como se ilustra en el cuadro 10 y gráfico 13. Considerándose que la aplicación de mayores niveles de nisina destruyen en su totalidad a este tipo de bacterias y que al ser comparados con los requisitos microbiológicos del queso fresco por el Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización INEN, en su Norma técnica 1529 de 1996 que infiere un recuento máximo permitido de 1000 UFC/g, vemos que esta muy por debajo de este valor y debe tomarse en cuenta lo manifestado por Eley A. (1994), que indica que la principal enfermedad transmitida por alimentos en el país es la intoxicación estafilocócica y es el queso blanco el principal alimento involucrado. La nisina es una bacteriocina capaz de frenar el crecimiento de microorganismos Gram positivos, entre ellos *Staphylococcus aureus*.

El empleo de cultivos iniciadores productores de bacteriocinas, representa una alternativa para elaboración de quesos con mejor calidad microbiológica. Al cotejar los resultados obtenidos en la presente investigación podemos ver que son inferiores con los reportes de Castro, G. (2009), que revelaron que los niveles requeridos de nisina, para reducir significativamente la carga de *S. aureus* ocurrió a partir de 500 UI/ml en donde hubo una disminución significativa de la carga bacteriana de 3.09 Log (UFC/ml), que es aproximadamente la máxima carga permitida, siendo comparable esta reducción con proporciones de nisina de 1000, 2000 y 3000 UI/m.

Cuadro 10. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DEL QUESO FRESCO ELABORADO CON LA ADICIÓN DE DIFERENTES NIVELES DE NISINA COMO ANTIBIÓTICO.

VARIABLES	NIVELES DE NISINA				CV	MG	Sx	PROB	SIGN
	0 g T0	0.4 % T2	0.6 % T3	0.8 % T4					
Contenido de <i>Estafilococcus Aureus</i> (UFC/ml)	6,50 c	45,30 b	164,20 a	0,00 d	7,93	295,25	0,68	0,009	**
Contenido de <i>Eschericha Coli</i> (UFC/ml)	1419,90 a	118,00 d	139,70 c	242,70 b	8,81	480,08	1,22	0,005	**
Contenido de <i>Salmonella</i> (UFC/ml)	0	0	0	0					

Fuente: Aguirre, C. (2010).

Criterio Microbiológico

PRODUCTO	PARAMETRO	MÉTODO DE ENSAYO
Queso fresco	<i>Estafilococcus</i> < 10 UFC/g	INEN 1529 -1996
	<i>Eschericha</i> (UFC/ml) < 10 UFC/g	INEN 1529 -1996
	<i>Salmonella</i> < 10 UFC/g	INEN 1529 -1996

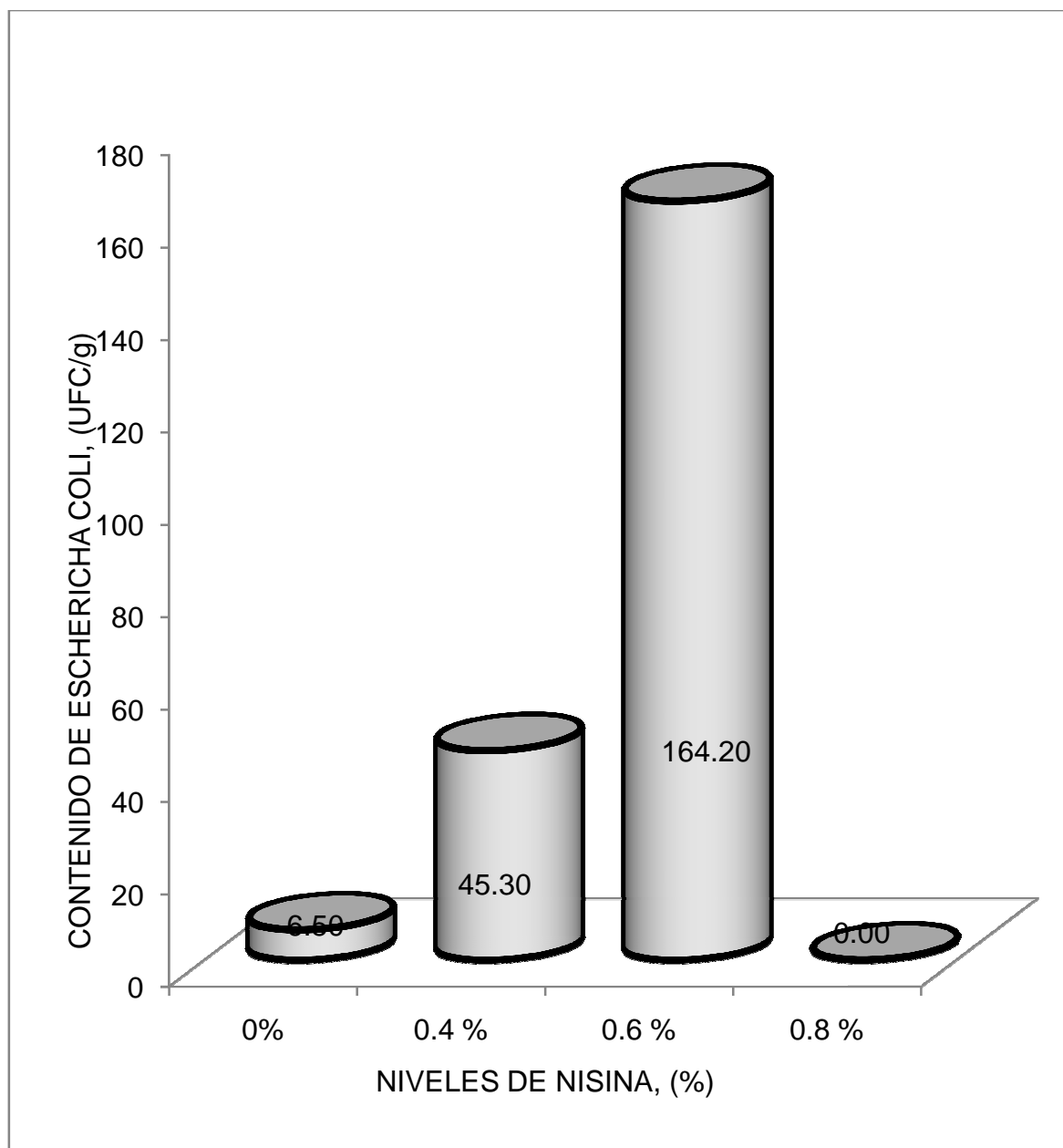


Gráfico 13. Comportamiento del contenido de *Estafilococcus Aureus* del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

En el análisis de regresión como se indica en el gráfico 14, se estableció una tendencia cuadrática altamente significativa con una ecuación para el contenido de *Estafilococcus aureus* = $23.28 - 1507.77x + 3277,44 x^2$, donde se aprecia que partiendo de un intercepto de 23,28 el contenido de *Shericha* inicialmente decrece en $1507.77x$ UFC/g con la aplicación de 0.4 %de nisina para finalmente al aplicar 0,6 y 0.8 %de nisina (T2 y T3), elevarse en 3277,44 UFC/g. El coeficiente de determinación R^2 que fue de 94,17% nos indica que existe una relación altamente significativa entre estas dos variables.

En el análisis del efecto que reportan los ensayos sobre el contenido de *Staphylococcus Aureus*, en el queso fresco elaborado con diferentes niveles de nisina, no se registraron diferencias estadísticas ($P < 0,19$), entre las medias de los tratamientos; sin embargo, numéricamente los mayores contenidos de estas bacterias fueron registrados en los quesos del primer ensayo con 998 UFC/g y los menores promedios en los quesos del segundo ensayo con 932 UFC/g, como se ilustra en el gráfico 15,pero no es un indicativo que debe ser tomado en cuenta pues al obtener el promedio registrado podemos ver que se incluyen los quesos de los tratamientos que no cuentan con este tipo de bacterias en comparación de aquellos que registraron niveles muy altos y al no haber significancia no va ser un indicativo exacto que nos permita tomar en cuenta en que ensayo existe mayor o menor número de bacterias del tipo de *Estafilococcus* que al registrar contenidos demasiado elevados son indicativos de degeneración en las características físico químicas y sensoriales del queso, convirtiéndole inclusive en un producto nocivo para la salud humana.

2. Contenido de *Escherichia Coli*

En cuanto al análisis de la presencia de *Escherichia Coli* en los quesos frescos las medias determinadas registraron diferencias altamente significativas ($P < 0.005$), por efecto de los diferentes niveles de nisina como antibiótico encontrándose, las mayores cantidades en los quesos elaborados sin la adición de la nisina con 1419,90 UFC/g, y la menor cantidades en los quesos elaborados con la incorporación de 0,4 %de nisina (T1), con 118 UFC/g, en tanto que valores

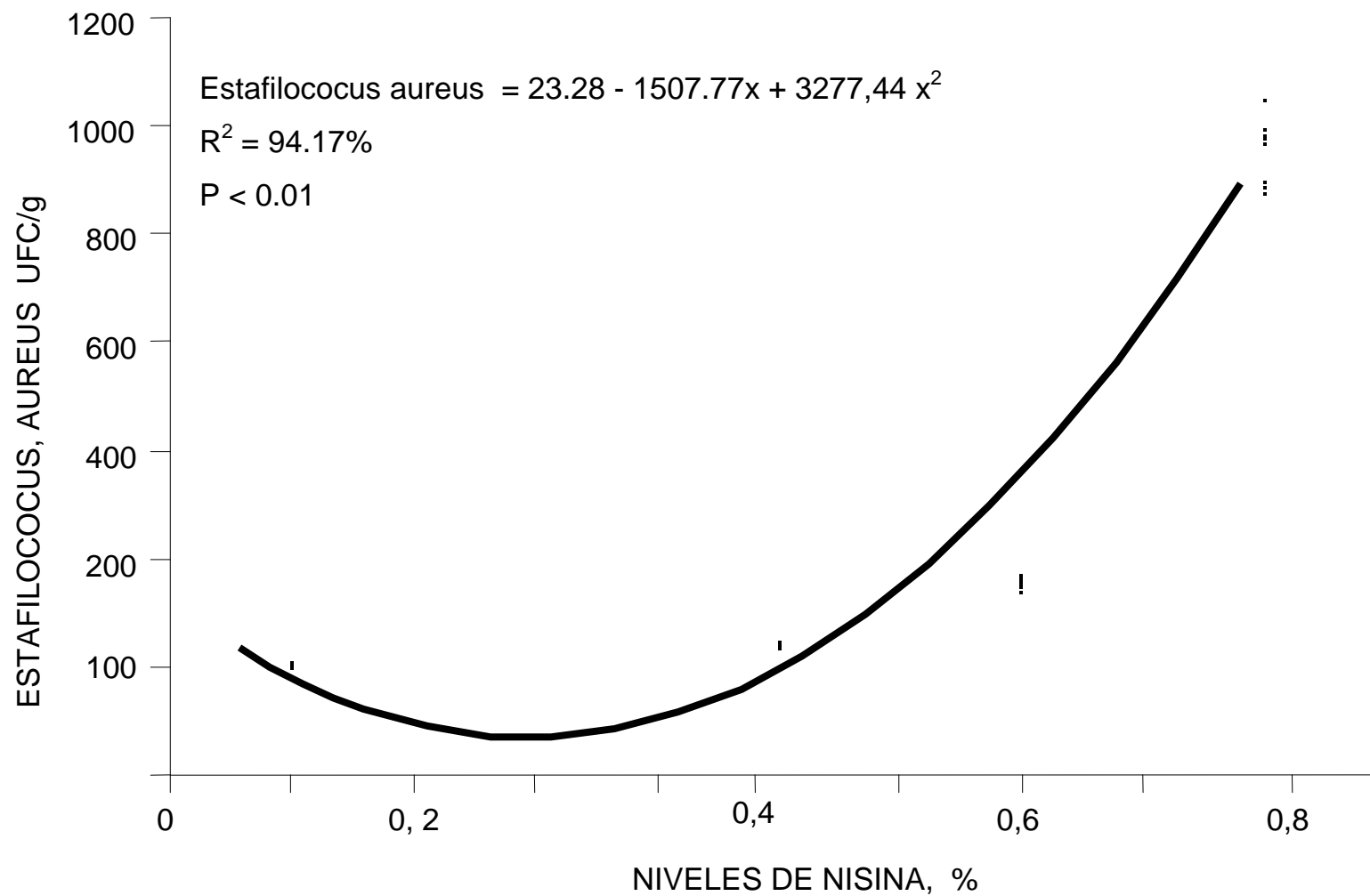


Gráfico 14. Regresión del contenido de *Staphylococcus Aureus*, del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

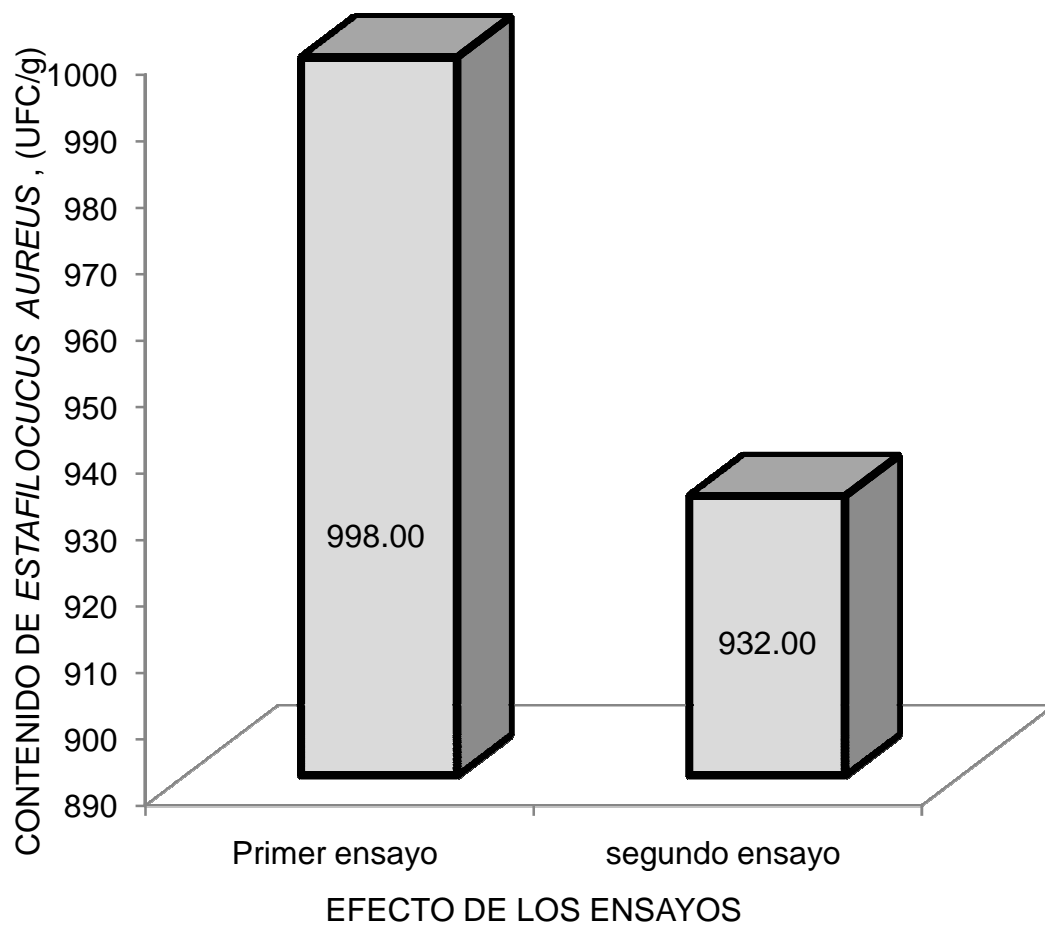


Gráfico 15. Comportamiento del contenido de *Staphylococcus Aureus* del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico, por efecto de los ensayos.

intermedios fueron los registrados en los quesos a los que se adiciono 0,4 y 0.6 % de nisina (T2 y T3), con 1139,70 y 242,70 UFC/g, respectivamente, como se ilustra en el gráfico 16, lo que es un indicativo que la aplicación de menores niveles de nisina disminuyen la presencia de este tipo de bacterias, ya que según [\(http://www.escherichiacoli.com\)](http://www.escherichiacoli.com).(2010), se trata de una bacteria que se encuentra generalmente en los intestinos animales, y por ende en las aguas negras. La *Escherichia coli*, en su hábitat natural, vive en los intestinos de la mayor parte de los mamíferos sanos. Es el principal organismo anaerobio facultativo del sistema digestivo. En individuos sanos, es decir, si la bacteria no adquiere elementos genéticos que codifican factores virulentos, la bacteria actúa como un comensal formando parte de la flora intestinal y ayudando así a la absorción de nutrientes.

En humanos, la *Escherichia coli* coloniza el tracto gastrointestinal de un neonato adhiriéndose a las mucosidades del intestino grueso en el plazo de 48 horas después de la primera comida, pero cuando su contenido se encuentra elevado en los quesos puede causar infecciones intestinales y extraintestinales generalmente graves, tales como infecciones del aparato excretor, cistitis, meningitis, peritonitis, mastitis, septicemia y neumonía Gram-negativa, desmejorando totalmente la calidad del alimento que inclusive puede llegarlo a considerar no apto para el consumo humano. La regresión que se registra entre el nivel de nisina y el contenido de *Escherichia Coli* presente en el queso fresco determina una tendencia cuadrática altamente significativa con una ecuación de $y = 1409.89 - 4737.62x + 4145.23x^2$, que indica que partiendo de un intercepto de 1409.89, el contenido de *Escherichia coli* inicialmente decrece en $4737.62x$, por cada unidad de cambio del nivel de nisina aplicado, para posteriormente al llegar a los 0.4 % de nisina elevarse en $4145.23x^2$, como se ilustra en el gráfico 17, con un coeficiente de determinación $R^2 = 98.27\%$, mientras que 1,73 % restante depende de otros factores que nada tienen que ver con la aplicación del antibiótico (nisina).

En el análisis de varianza del contenido de *Escherichia Coli*, en el queso fresco elaborado con diferentes niveles de nisina no se registraron diferencias estadísticas entre las medias de los tratamientos, ($P < 0,21$), por efecto de los ensayos sin embargo numéricamente se puede registrar un mayor contenido de

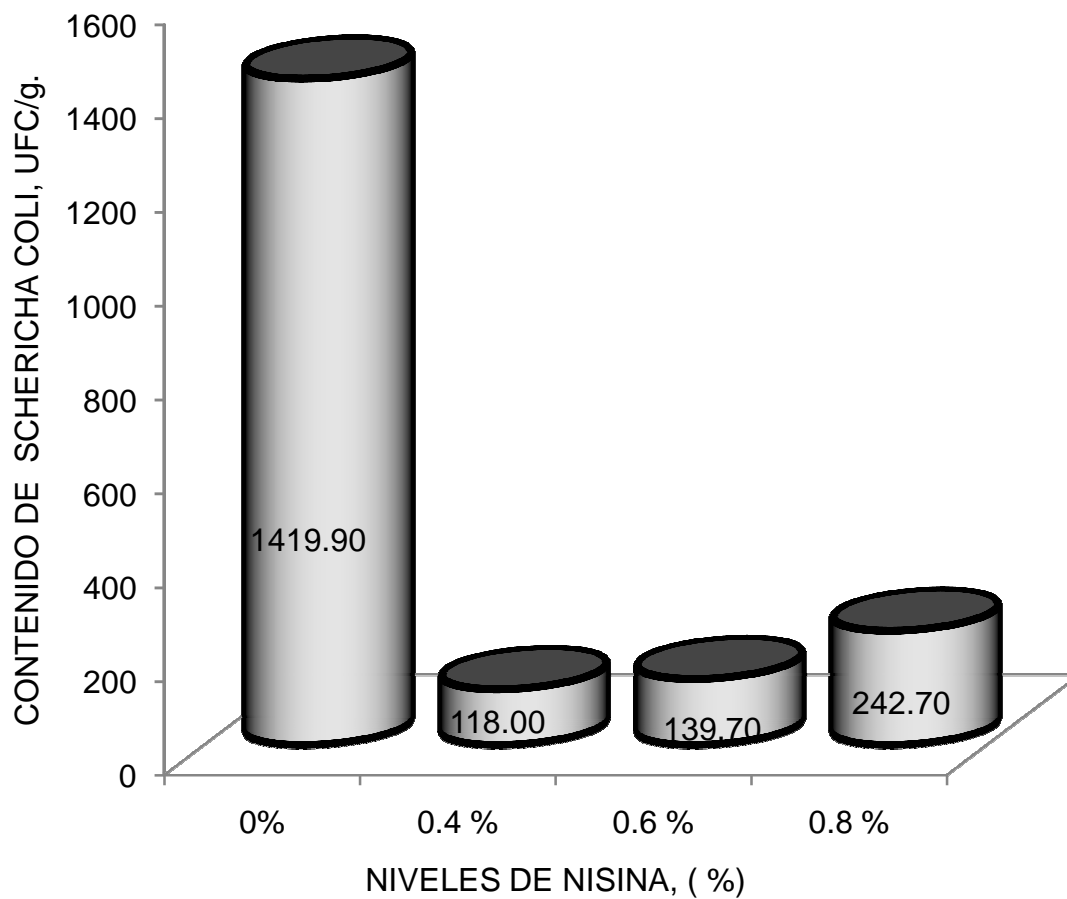


Gráfico 16. Comportamiento del contenido *Schericha Coli* del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

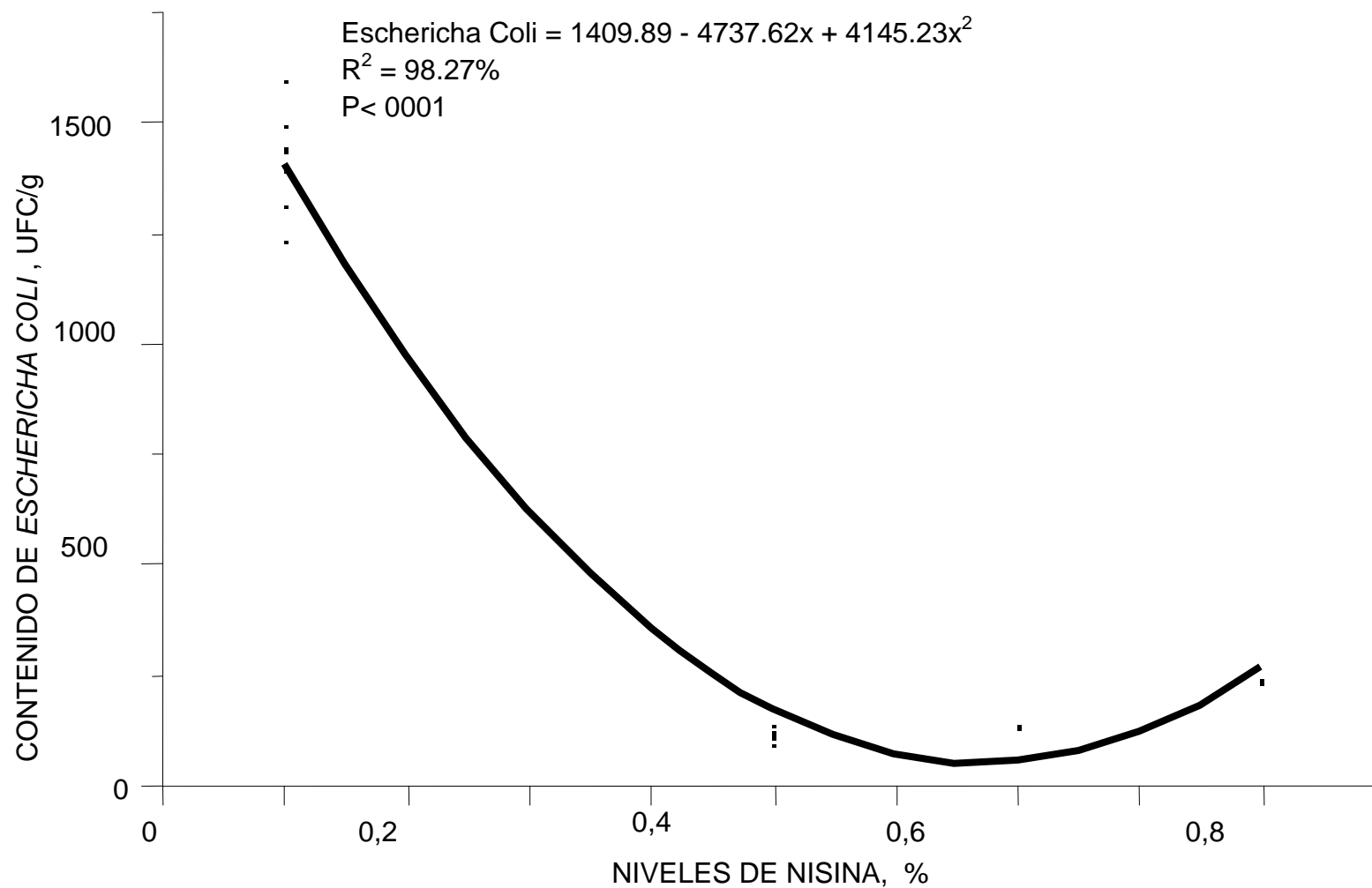


Gráfico 17. Regresión del contenido de *Escherichia Coli*, del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

este tipo de bacterias en el queso fresco del segundo ensayo con 242 UFC/g , y un menor contenido en los quesos del segundo ensayo con 243.40 UFC/g, como se indica den el cuadro 11, y grafico 18. Sin embargo estos reportes no superan las Exigencias de calidad de la elaboración del queso fresco del instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), en su Norma técnica 1529 (1996), que infiere un contenido máximo de 500 UFC/g de salmonella para considerarlos un alimento con buenas condiciones microbiológicas.

Estos resultados son semejantes a los reportados por Salinas B, (2001), quien encontró en quesos blancos elaborados con cultivos de *Enterococcus* productores de bacteriocinas, baja población de bacterias coliformes al compararlos con los quesos controles, lo que se debió al efecto de la acidez generada por el metabolismo fermentativo de los cultivos y con lo observado por Rodríguez E. (2005), que utilizando cultivos de *Lactococcus* productores de nisina y pediocina encontraron un efecto inhibitorio de *Escherichia coli*.

3. Contenido de salmonella

En el diagnostico microbiológico del queso fresco elaborado con diferentes niveles de nisina , se registro ausencia total de salmonella, debido a que estos microorganismos no se desarrollan en el producto por la eficacia del accionar del antibiótico, ya que como se manifiesta en <http://www.microbiologiaquesot.com> (2009), los microorganismos del genero salmonella s un género de bacterias que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, formado por bacilos gramnegativos, anaerobios facultativos, con flagelos peritricos y que no desarrollan cápsula ni esporas. Son bacterias móviles que producen sulfuro de hidrógeno fermentan glucosa por poseer una enzima especializada, pero no lactosa, y no producen ureasa. Se transmite por contacto directo o contaminación cruzada durante la manipulación, en el procesado de alimentos, la presencia de este tipo de bacterias provocan salmonelosis con un período de incubación de entre 5 horas y 5 días, diarrea y dolor abdominal. A través de las heces del enfermo se elimina un gran número de esta bacteria y se observa fiebre entérica con un periodo de incubación de 7 a 28 días, causante de dolor de cabeza, fiebre, dolor abdominal

Cuadro 11. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DEL QUESO FRESCO ELABORADO CON LA ADICIÓN DE DIFERENTES NIVELES DE NISINA COMO ANTIBIÓTICO, POR EFECTO DE LOS ENSAYOS.

VARIABLES	EFECTO DE LOS ENSAYOS					
	Primer ensayo	Segundo ensayo	\bar{x}	Sx	Prob	Sign
	E1	E2				
Contenido de Estafilococcus	998 a	932,00 a	295,25	0,68	0,19	ns
Contenido de Eschericha	242,00 a	243,40 a	480,08	1,22	0,21	ns
Contenido de salmonella	0	0				

Fuente: Aguirre, C. (2010),

\bar{x} ; media general

Sx: error típico de las medias

Prob. Probabilidad

Sign: significancia

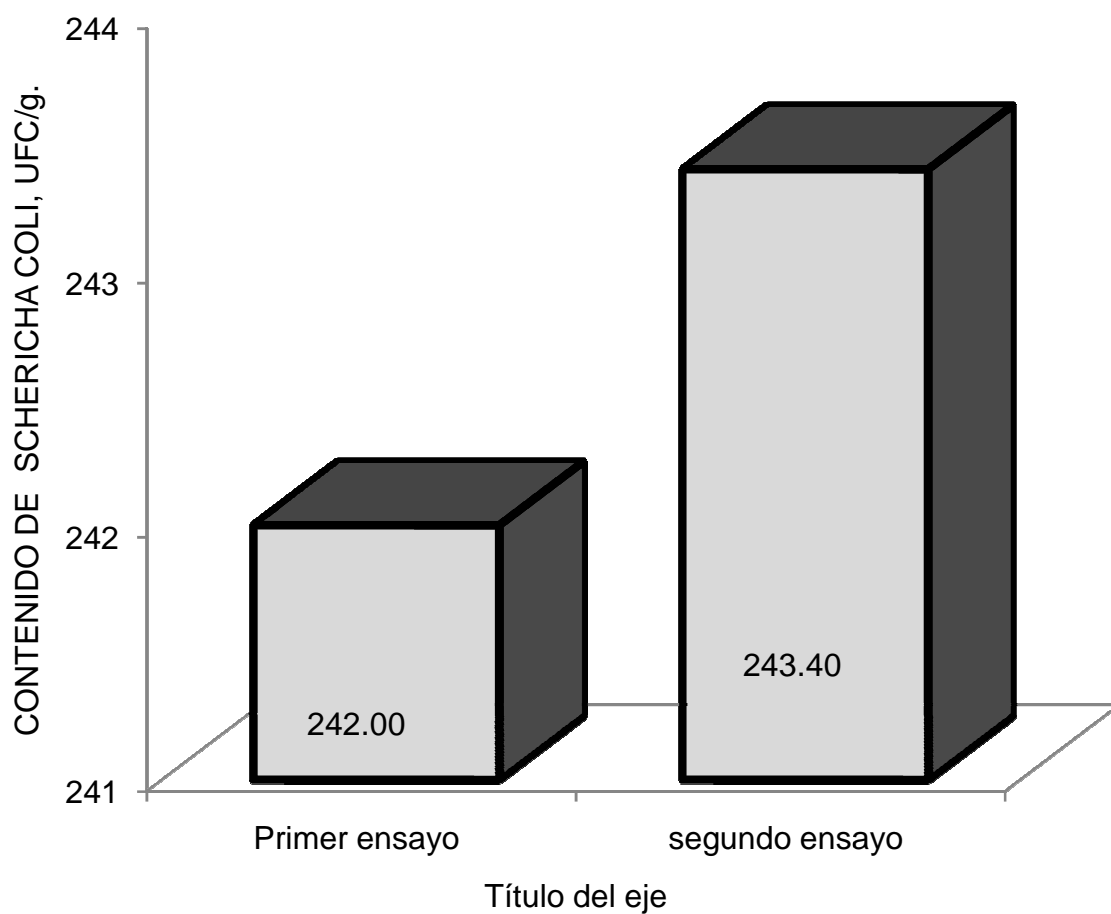


Gráfico 18. Comportamiento del contenido de *Schericha Coli* del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico, por efecto de los ensayos.

diarrea, erupción máculo-papulosa en pecho y espalda. Los enfermos presentan un período de convalecencia entre 1 y 8 semanas, también puede ocasionar fiebres entéricas o infección intestinal por intoxicación con algunos alimentos. Por lo que el reporte del Laboratorio al ser negativo se cumple con los requerimientos que indica la Norma Técnica INEN 15,29 (1996), de elaboración del queso, ya que si hay proliferación de estos en el producto final indican generalmente una contaminación directa o indirecta de origen fecal y por consiguiente la existencia del riesgo de que hayan podido llegar al alimento microorganismos patógenos de procedencia entérica. Por lo tanto de acuerdo a los reportes antes mencionados se puede decir que durante el proceso de elaboración del queso fresco, se vigiló los puntos críticos que se presentan en la recepción de materia prima, desinfección, y procesamiento en donde se requiere eliminar los agentes microbianos que generen condiciones inadecuadas para el proceso, y como también se escogió correctamente los niveles de nisina para que sean los necesarios para inhibir la proliferación de la salmonella.

C. EVALUACIÓN DE LAS CALIFICACIONES SENSORIALES DEL QUESO FRESCO ELABORADO CON LA ADICIÓN DE DIFERENTES NIVELES DE NISINA COMO ANTIBIÓTICO

1. Apariencia

En el análisis de la calificación sensorial de apariencia del queso fresco elaborado con diferentes niveles de nisina como antibiótico, no se registraron diferencias estadísticas ($P < 0,64$), entre las medias de los tratamientos, de acuerdo a la prueba de rating test, con un coeficiente de variación de 3,41% y una media general de 14,44 puntos, y un error típico de las medias de 0,25 como si indica en el cuadro 12 y gráfico 19 presentándose las calificaciones más altas de la investigación en los quesos del tratamiento T1 (0.4 % de nisina) con 14,88 puntos, seguido de los quesos del tratamiento control (T0), con medias de 14,50 puntos, en tanto que las calificaciones de apariencia del queso mas bajas fueron las reportadas por el tratamiento T2 con 14,25 y T3 con 14,13 puntos que compartieron rangos de significancia según Tukey ($P < 0.05$), sobre 15 de

Cuadro 12. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DEL QUESO FRESCO ELABORADO CON LA ADICIÓN DE DIFERENTES NIVELES DE NISINA COMO ANTIBIÓTICO.

VARIABLE	NIVELES DE NISINA				CV	MG	Sx	Prob	Sign
	0 % T0	0.4 % T1	0.6 % T2	0.8 % T3					
Apariencia, 15 puntos.	14,50 ab	14,88 a	14,25 b	14,13 c	3,41	14,44	0,25	0,64	ns
Olor 10 puntos.	8,88 b	9,25 a	8,00 b	7,25 c	7,16	8,34	0,30	0,001	**
Color 10 puntos.	8,63 c	9,38 b	8,63 a	8,50 d	6,22	8,78	0,27	0,51	ns
Sabor 35 puntos.	33,88 b	34,75 a	33,50 b	32,38 c	1,25	33,63	0,21	0,004	**
Textura 30 puntos.	28,38 b	30,13 a	27,25 c	26,88 c	4,59	28,16	0,65	0,23	ns
Valoración total 100 puntos.	94,25 b	97,00 a	91,75 c	89,13 c	1,97	93,03	0,92	0,005	**

Fuente: Aguirre, C. (2010).

CV: Coeficiente de variación

MG : Media general

Sx: Error típico de las medias

Prob: Probabilidad

Sign: Significancia.

** : Promedios con letras diferentes en la misma fila difieren estadísticamente según Tukey ($P < 0.05$).

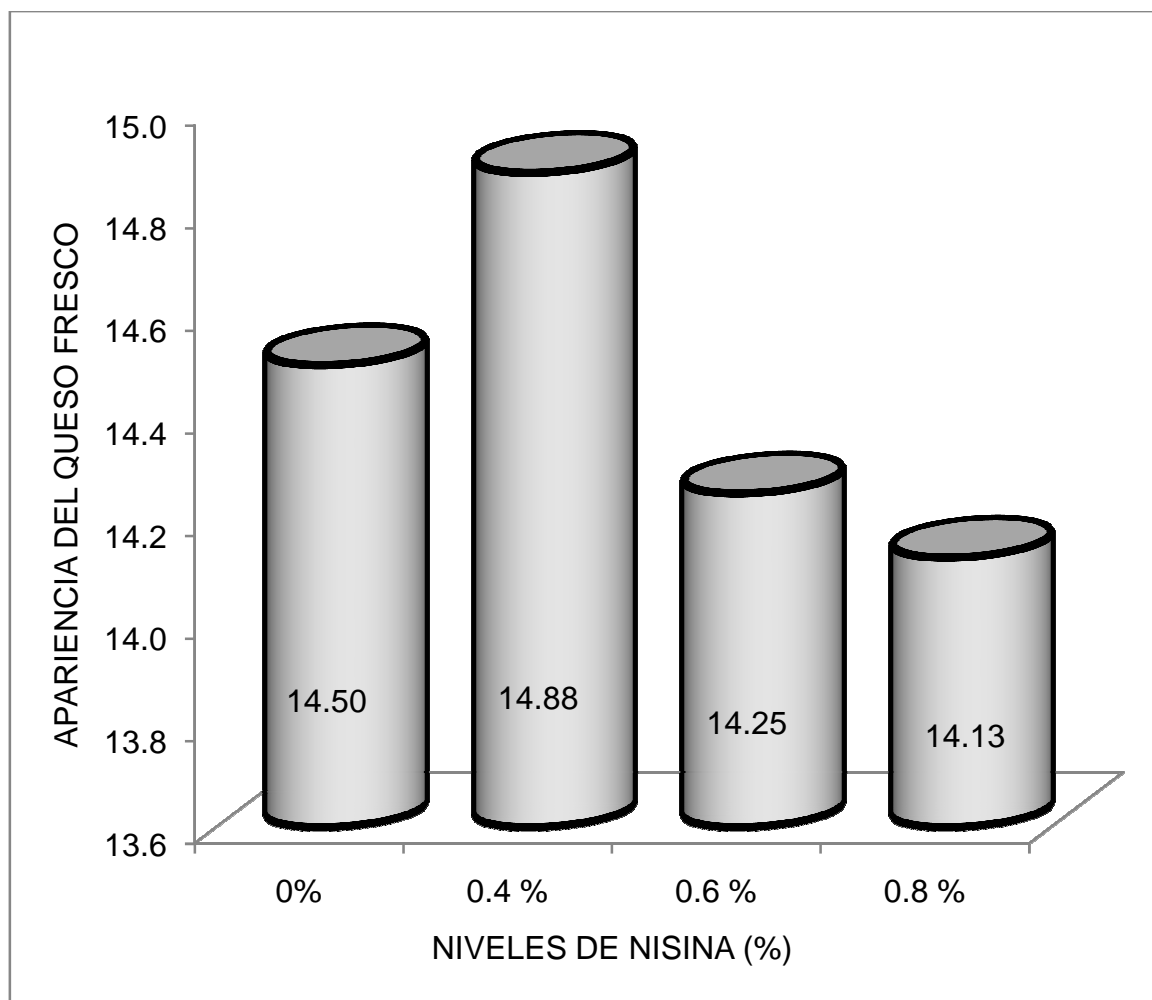


Gráfico 19. Comportamiento de la apariencia del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

referencia, permitiéndose según el análisis de los resultados aseverar que al aplicar 0.4% de nisina se mejora la apariencia del queso fresco que como manifiesta Porter, N. (1981), la apariencia es uno de los atributos de gran importancia en el queso es la apariencia, suele percibirse con la la vista, que permite la primera apreciación de un queso. Debe ser rápida, instantánea, analítica y dinámica. Se evalúan las características externas e internas de un queso: su forma, su color y cómo es su corteza, su brillo, su tamaño, el aspecto de la masa al corte, el color de la misma, la presencia de ojos, grietas, aberturas, su naturaleza, etc. cortezas agrietadas, abombadas elaboración o conservación. La presencia de muchos ojos (redondeados) suele ser un indicador de actividad bacteriana, mientras que aberturas irregulares y pequeñas suelen estar asociadas a una inadecuada fabricación. Esta medición sensorial es muy importante sobre todo en productos que se supone deben tener una cierta consistencia en relación con su aspecto al paladar, como lo es el queso; además, a esta característica se debe sumar otros factores como el sabor, el pH y el valor nutricional para elevar la aceptabilidad por parte del consumidor.

2. Olor

Las puntuaciones medias de la calificación sensorial del olor de los quesos frescos presentaron diferencias altamente significativas ($P < 0.001$), entre las medias de los tratamientos según rating test por efecto del nivel de nisina aplicado registrándose las calificaciones más altas en los quesos del tratamiento T2 con 9.25 puntos y que desciende a 8,88 y 8.00 puntos en los quesos del tratamiento control y T2 respectivamente; en tanto que el panel de cata les asignaron las puntuaciones más bajas a los quesos del tratamiento T3 con 7.25 puntos sobre 10 de referencia además se registró un coeficiente de variación de 7,16 % , una media general de 8.34 puntos y un error típico de las medias de 0.30, como se ilustra en el gráfico 20. .

Valoraciones que pueden deberse posiblemente a lo que señala Coste, E. (2005), quien indica que para evaluar el olor utilizamos el órgano del olfato, que está radicado en la parte superior de la nariz, en la mucosa de la pituitaria. Reconoce y

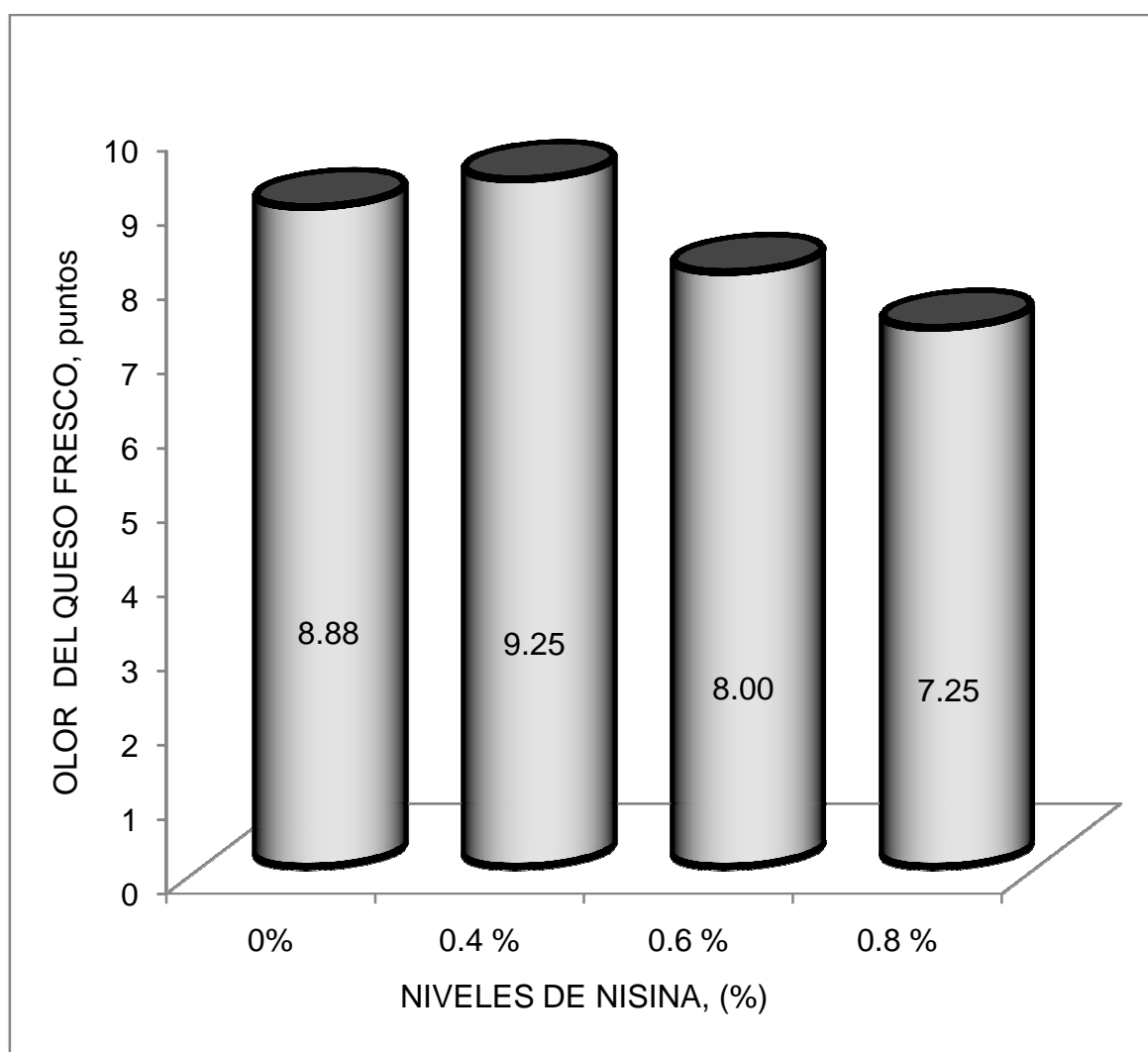


Gráfico 20. Comportamiento del olor del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

clasifica las moléculas volátiles difundidas por el aire, que son solubles en dicha mucosa. El olor es la propiedad organoléptica perceptible por el órgano olfativo al detectar ciertas sustancias volátiles, Se determina directamente al acercar el queso a la nariz. Depende de la concentración de vapores odorantes, su capacidad de solubilizarse en las mucosas, y la fuerza con la que se hace la inspiración. Debe analizarse antes de introducir el queso en la boca acercando la muestra a la nariz con el fin de poder percibir a través de la vía nasal directa los olores que caracterizan al queso, intentando reconocer los olores dominantes.

Para completar y mejorar la percepción se aconseja romper en dos la muestra por el centro, cerca de la nariz y aspirar inmediatamente la fuerza del estímulo percibido (intensidad del olor). El olor láctico es dominante o casi exclusivo en los quesos jóvenes (frescos), mientras que en los más madurados aparecen otras familias de olores, como consecuencia de una serie de mecanismos, en su mayoría enzimáticos, que transforman los diferentes componentes de la cuajada formando numerosos componentes aromáticos, cuya proporción y naturaleza dependen de la elaboración del queso es decir el grado de oxidación que es una reacción en cadena, que una vez iniciada, continúa acelerándose hasta la oxidación total de las sustancias sensibles, apareciendo olores y sabores a rancio, lo que se evitó al emplearse la nisina. Los defectos del olor del queso pueden ser olor fuerte amoniacal por exceso de fermentación, fétido, rancio, mohoso, o cualquier olor anormal o extraño.

Mediante el análisis de regresión que se ilustra en el gráfico 21, se determinó una tendencia cúbica altamente significativa con una ecuación para $\text{olor} = 8,88 + 1,90x - 1,88x^2 + 0,35x^3$ lo que quiere decir que partiendo de un intercepto de 8,88 la apariencia inicialmente tiende a elevarse en 1,90 unidades con la aplicación del 4% de nisina (T1), para luego decrecer en 1.88 unidades al incorporarse 0.6 % de nisina (T2), para finalmente volver a ascender en 0.35 decimas al incluir en 0.8 % de nisina en la formulación del queso fresco, el coeficiente con un coeficiente de determinación R^2 de 50.09%, en tanto que el 41.99% restante depende otros factores como pueden ser el tamaño y precisión en el corte de la cuajada que da mejor apariencia al queso.

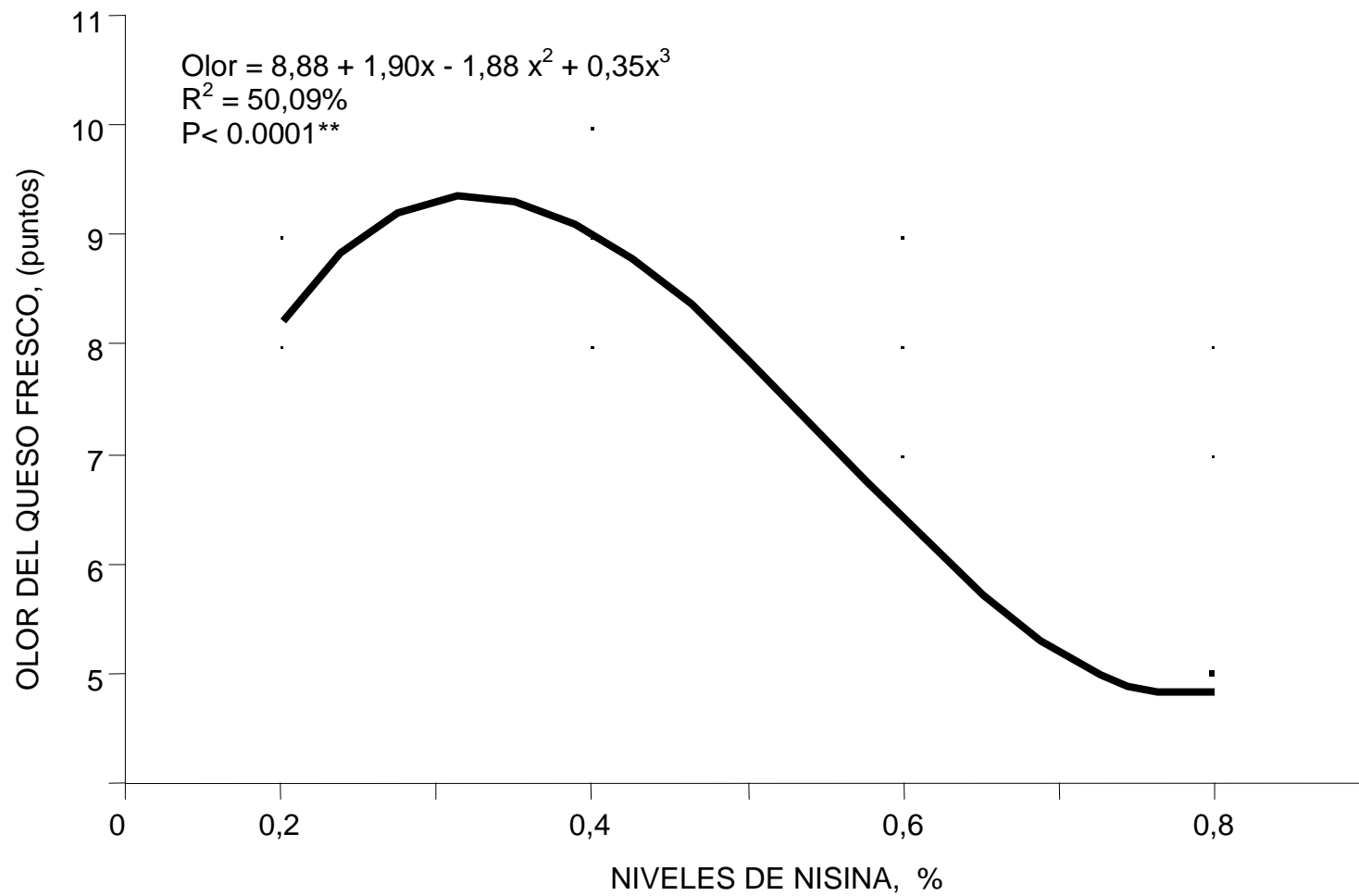


Gráfico 21. Regresión del olor del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

3. Color

Las calificaciones asignadas de la valoración del color, tomando como referencia una calificación de 10 puntos, no fueron diferentes estadísticamente ($P < 0,51$), entre medias, con un coeficiente de variación de 6, 33% y una media general de 8,78 así como también una desviación estándar de 0,27 aunque numéricamente se registraron pequeñas variaciones, ya que se observó mayor preferencia por parte de los catadores hacia los quesos del tratamiento T1, en los que se utilizó 4 g de nisina, ya que recibieron una calificación de 9,38 puntos, calificación que se redujo a 8,63 puntos en ambos casos cuando se empleó el grupo control y el tratamiento T2 (6 g de nisina), recibiendo estas calificaciones debido a que el color de los quesos varió ligeramente entre el cremoso del grupo control blanco a ligeramente amarillento en los otros, como se ilustra en el gráfico 22, debiendo tenerse en cuenta adicionalmente lo que señalan Losada, M. y Serrano, J. (2006), quienes indican que el matiz o tono y la intensidad varían mucho de unos quesos a otros y a veces incluso en la superficie del corte del mis-mo queso, lo que justifica las respuestas señaladas por los catadores, indicándose además que el queso fresco también se designa como queso blanco, los defectos en el color del queso fresco más importantes son coloración no uniforme, manchado o moteado, provocado por crecimiento de mohos o microorganismos que no correspondan a las características del queso de que se trate.

4. Sabor

Las calificaciones asignadas al sabor del queso fresco elaborado con diferentes niveles de nisina como antibiótico presentaron diferencias altamente significativas ($P > 0,004$), entre medias, de acuerdo a la prueba de rating test, registrándose las mejores respuestas en el tratamiento T1, con apreciaciones de 34,75 puntos sobre 35 de referencia, mientras que la menor aceptación por parte de los catadores, ya que les asignaron calificaciones de 32,38 puntos fueron reportadas en el tratamiento T3, deduciéndose por consiguiente que el nivel óptimo de nisina fue 0.4 %; ya que, favorece al mejoramiento del sabor del queso, y por consiguiente eleva la aceptación por parte del consumidor ya que

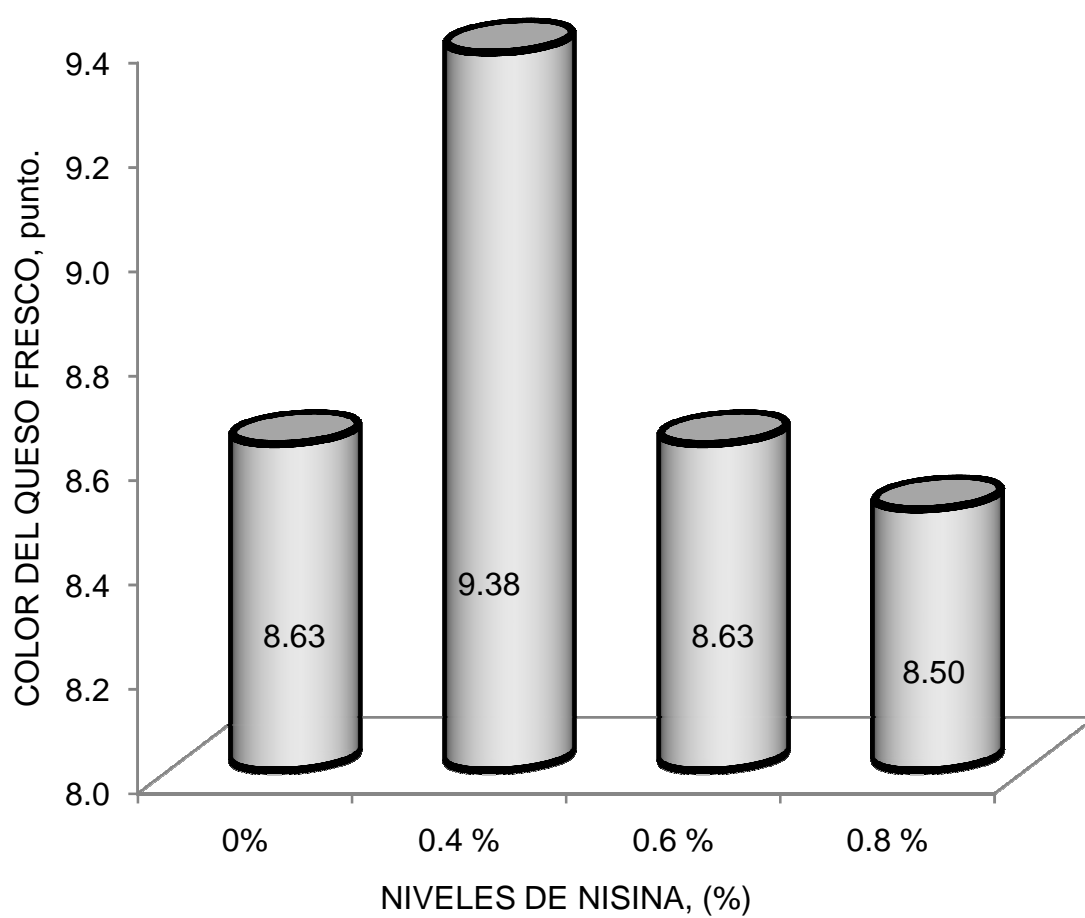


Gráfico 22. Comportamiento del color del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

según Salamanca, L. (2007), las sustancias no tienen en general un sabor único, lo que se percibe suele ser una sensación compleja originada por uno o más de los gustos básicos, el sabor, está dado por el órgano del gusto, que es la lengua. Se aprecia cuando es estimulado por ciertas sustancias solubles. Tradicionalmente se definen cuatro sabores elementales: salado, dulce, ácido y amargo; aunque actualmente se incluye también un quinto sabor: el umami (glutamato monosódico). La teoría clásica sitúa estos sabores en las papilas gustativas, en función de su ubicación en la lengua; de esta forma, el sabor amargo se detecta en la parte posterior, el salado en la intermedia, el dulce en la punta, mientras que el ácido se detecta en los bordes. Modernos estudios acerca de la percepción del gusto señalan que las papilas gustativas responden a alguno de los cuatro sabores elementales, con intensidad y sensibilidad diversa, estando desigualmente repartidos por toda la boca, por lo que es importante introducir un trozo de queso lo suficientemente grande para que se pueda pasar por toda la lengua. Además de los sabores elementales existen las denominadas sensaciones trigeminales, que corresponden a impresiones irritantes y agresivas percibidas de manera inespecífica en la boca. Se detectan en toda la boca y para ello es importante pasar el trozo de queso por toda la lengua, paladar y encías.

Los productos que presentan gustos ácidos, salados y dulces permiten establecer reglas asociadas a las funciones químicas o a la estructura química del producto, de aquí que se confirme lo indicado por Coste, E. (2005), que señala que para evaluar el sabor las piezas del queso deben ser masticadas y salivadas, de los cuatro sabores básicos los más frecuentes en un queso son el ácido y el salado, los reportes del sabor se ilustran en el grafico 23.

Al realizar el análisis de regresión se determinó una tendencia cúbica altamente significativa como se ilustra en el gráfico 24, con una ecuación para Sabor = $33,88 + 2,69 x - 2.19 x^2 + 0.38 x^3$, que infiere que partiendo de un intercepto de 33,88 unidades el sabor inicialmente se eleva en 2.69 unidades al incluir en la formulación 0.4 % de nisina para luego descender en 2.19 unidades al incorporar 0.6 % de nisina para finalmente volver a elevarse en 0.38 decimas al incluir niveles de 0.8 % de nisina, encontrándose una dependencia del 71.31% y una

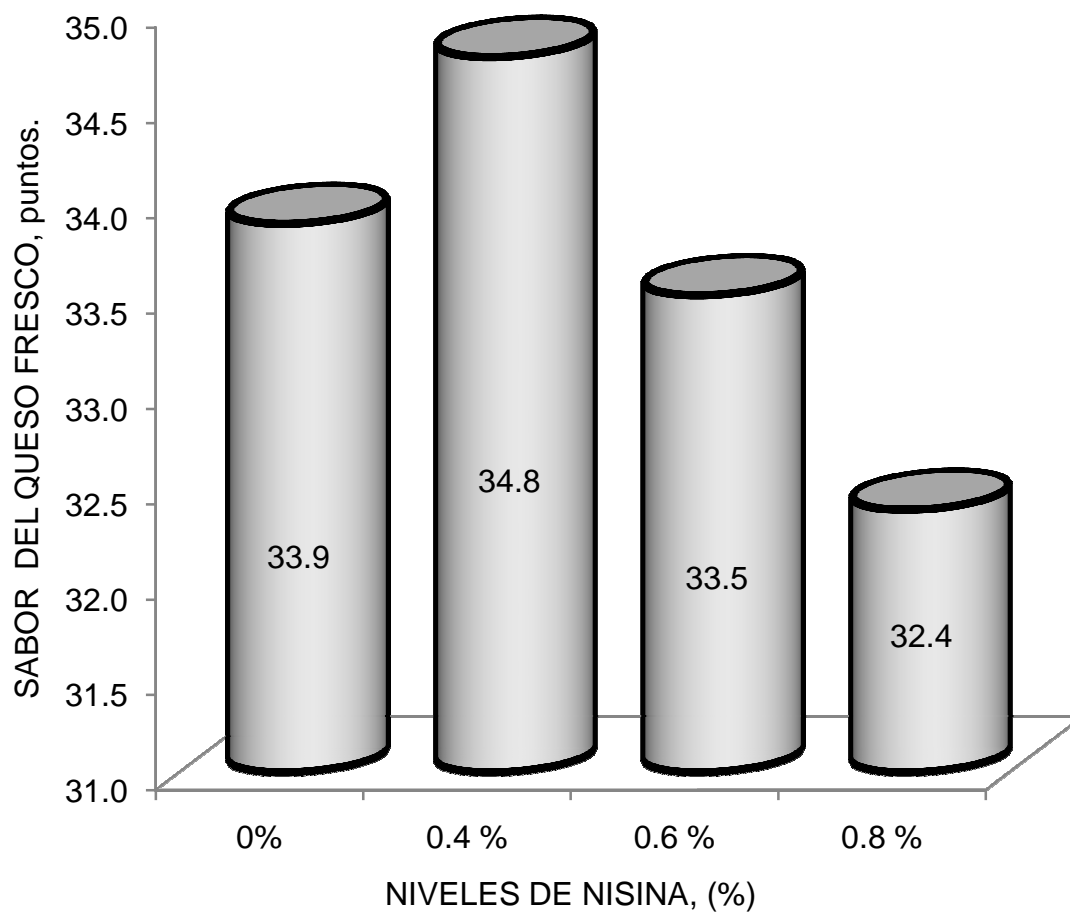


Gráfico 23. Comportamiento del sabor del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

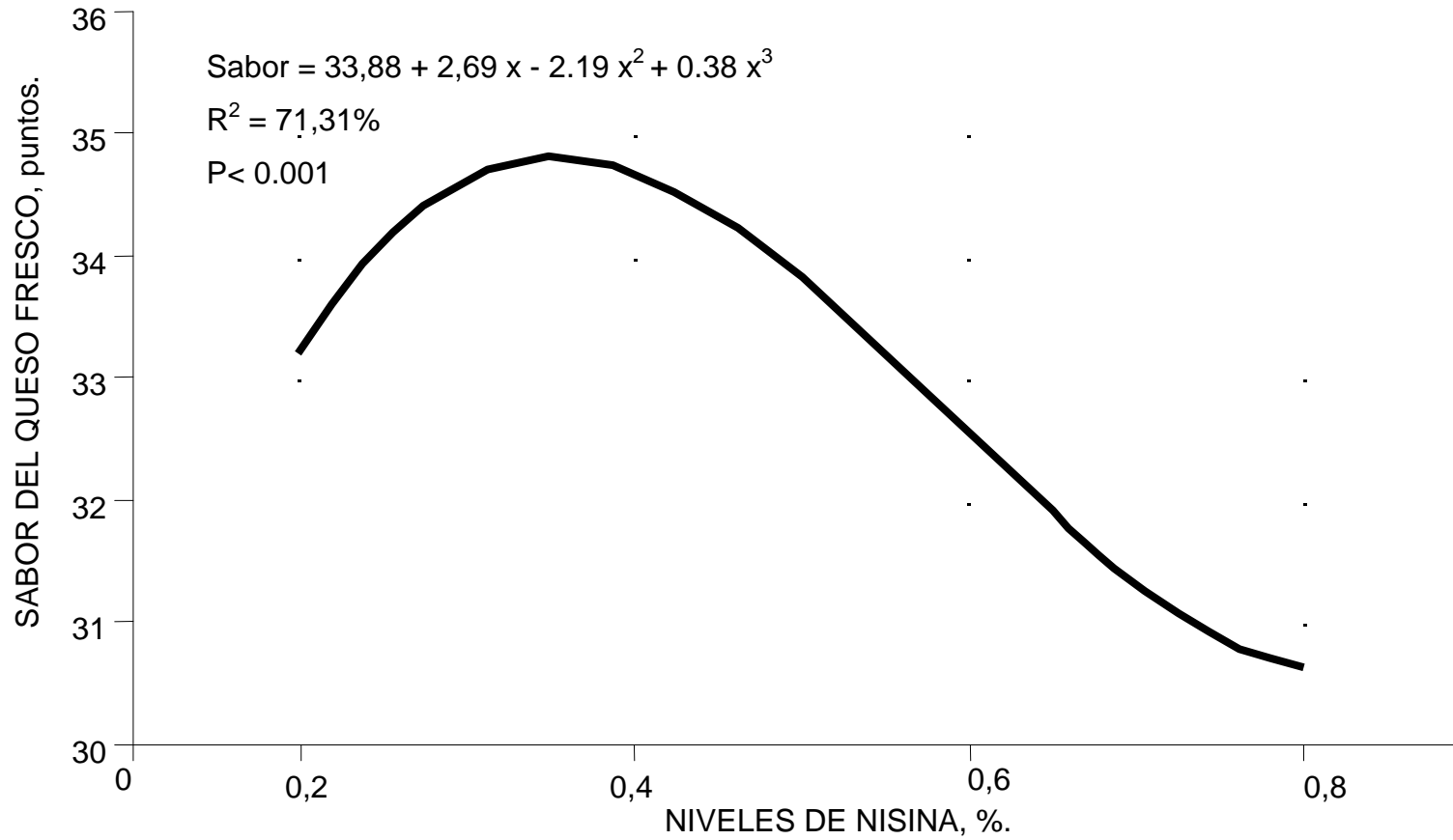


Gráfico 24. Regressión del sabor del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico

relación significativa alta ($P < 0.01$), lo cual es favorable para ciertos tipos de industrias como el caso de la elaboración de quesos .

5. Textura

Las medias registradas en la valoración sensorial de textura del queso fresco , elaborado con diferentes niveles de nisina, fueron diferentes estadísticamente ($P < 0.03$), entre si, con una media general de 28,16 puntos, y un coeficiente de variación de 4,59% que es un indicativo de una elevada homogeneidad en la dispersión de los datos experimentales. Registrándose en la separación de medias según Tukey ($P < 0.05$), que la mejor textura, se alcanzó en el tratamiento T1 (0.4 % de nisina) con calificaciones de 30,13 puntos sobre 35 puntos de referencia, es decir que el producto se presentó como una masa uniforme en donde las partículas sólidas fueron lo suficientemente pequeñas para no ser detectadas en la boca, en tanto que los valores más bajos fueron registrados en el queso del grupo control con apreciaciones de 28,38 puntos mientras que los valores más bajos fueron los reportados en el queso del tratamiento T3 (0.8 % de nisina) con 26,88 puntos y que además compartieron rangos de significancia con los quesos del tratamiento T2 (0.6 % de nisina) cuya apreciación fue de 27,25 puntos, como se ilustra en el gráfico 25.

En este sentido Rodríguez, J. (2005), indica que la textura de los alimentos, es el conjunto de propiedades capaces de ser percibidas por los ojos, el tacto, los músculos de la boca incluyendo sensaciones como aspereza, suavidad y granulosidad que se perciben a través de la masticación. Los responsables de valorar la textura en los alimentos son los receptores cutáneos de la cavidad bucal, se realiza cuando el queso está en la boca. Se suele efectuar en dos fases: Antes de masticarlo se determina: la firmeza, resistencia que opone a ser mordido; la friabilidad, capacidad de generar trozos en la boca cuando es mordido dos o tres veces. Cuando el queso ha sido masticado e insalivado se obtiene: la humedad, cantidad de agua absorbida o liberada; la solubilidad que se refiere a la facilidad para disolverse en la saliva; la adherencia, dificultad para separar el

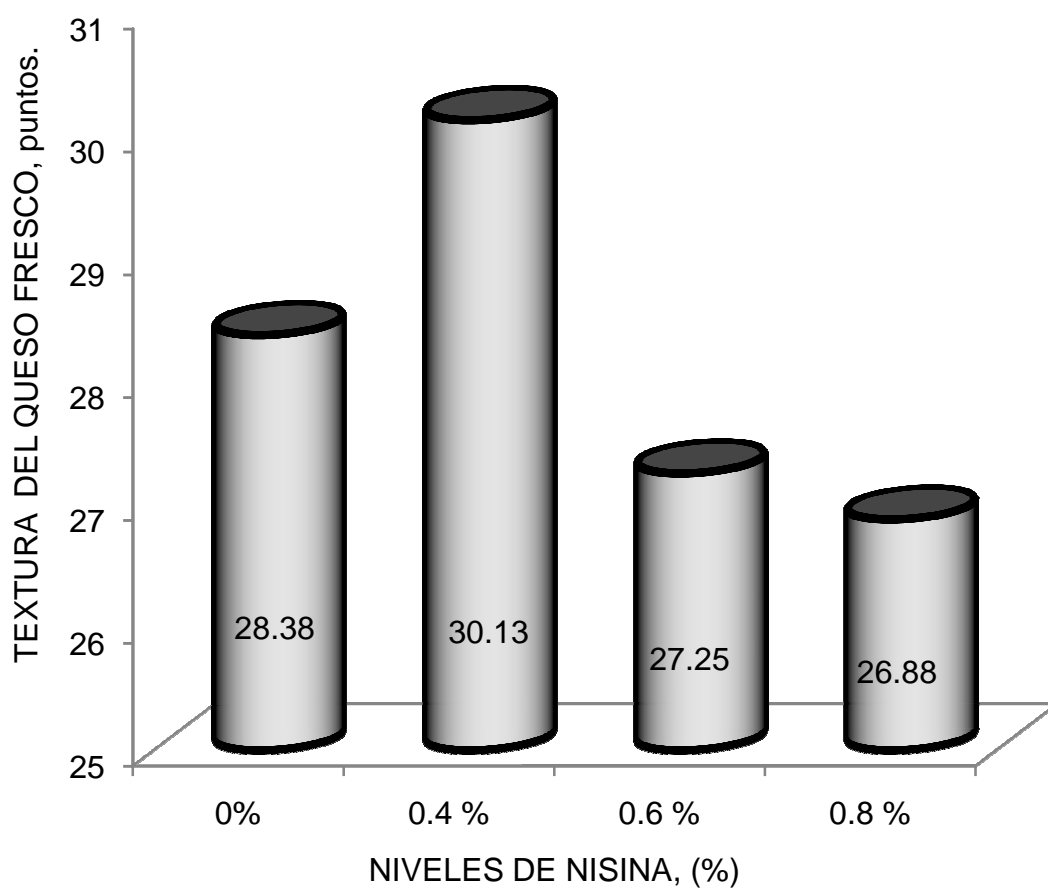


Gráfico 25. Comportamiento de la textura del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

queso de los dientes y el paladar; y la microestructura o granulosidad que se analiza, justo antes de tragarlo, cuando se observa si la sensación que produce el queso es fina, es decir, no tiene ninguna partícula, o bien si es harinosa o incluso granulosa o grosera, como algunos quesos curados o deformes dan idea de una mala elaboración. La nisina en bajos niveles provoca que los quesos más jóvenes sean moderadamente húmedos, de elasticidad débil y rugosidad fina, es decir mejoran la textura de los quesos. En boca, la textura se solubiliza fácilmente presentando una firmeza y adherencia débil. Una vez que el queso se mastica e insaliva completamente, se detecta una sensación similar a la producida por el alimento más agradable.

Al realizar el análisis de regresión que se ilustra en el gráfico 26, se puede observar una tendencia cuadrática altamente significativa ($P < 0.002$), con una ecuación de textura = $28.62 + 0.37x - 0.34x^2$, de la misma manera se puede manifestar que por cada nivel de aplicación de nisina inicialmente la textura se eleva en 0.37 decimas, para luego descender en 0.34 decimas al incluirse mayores niveles de nisina en la formulación del queso fresco, con un coeficiente de determinación del 73,53%, por efecto del nivel de nisina aplicado siendo beneficioso puesto que los quesos son más homogéneos y que al masticarlos no se evidencien grumos.

6. Valoración total

En las puntuaciones totales, del queso fresco elaborado con diferentes niveles de nisina como se ilustra en gráfico 27, se estableció que las variaciones encontradas fueron estadísticamente diferentes ($P < 0.005$), observándose superioridad de preferencia por los quesos elaborados con 0.4 % de nisina por cuanto las calificaciones totales registradas fueron de 97,00 puntos sobre 100 puntos de referencia siguiéndoles en orden de magnitud las preferencias asignadas por el panel de cata para los quesos del grupo control con 94,25 puntos, a continuación se ubicaron las calificaciones asignadas a los quesos que se incorporó 0.6 % de nisina (T2), con una calificación total de 91,75 puntos para

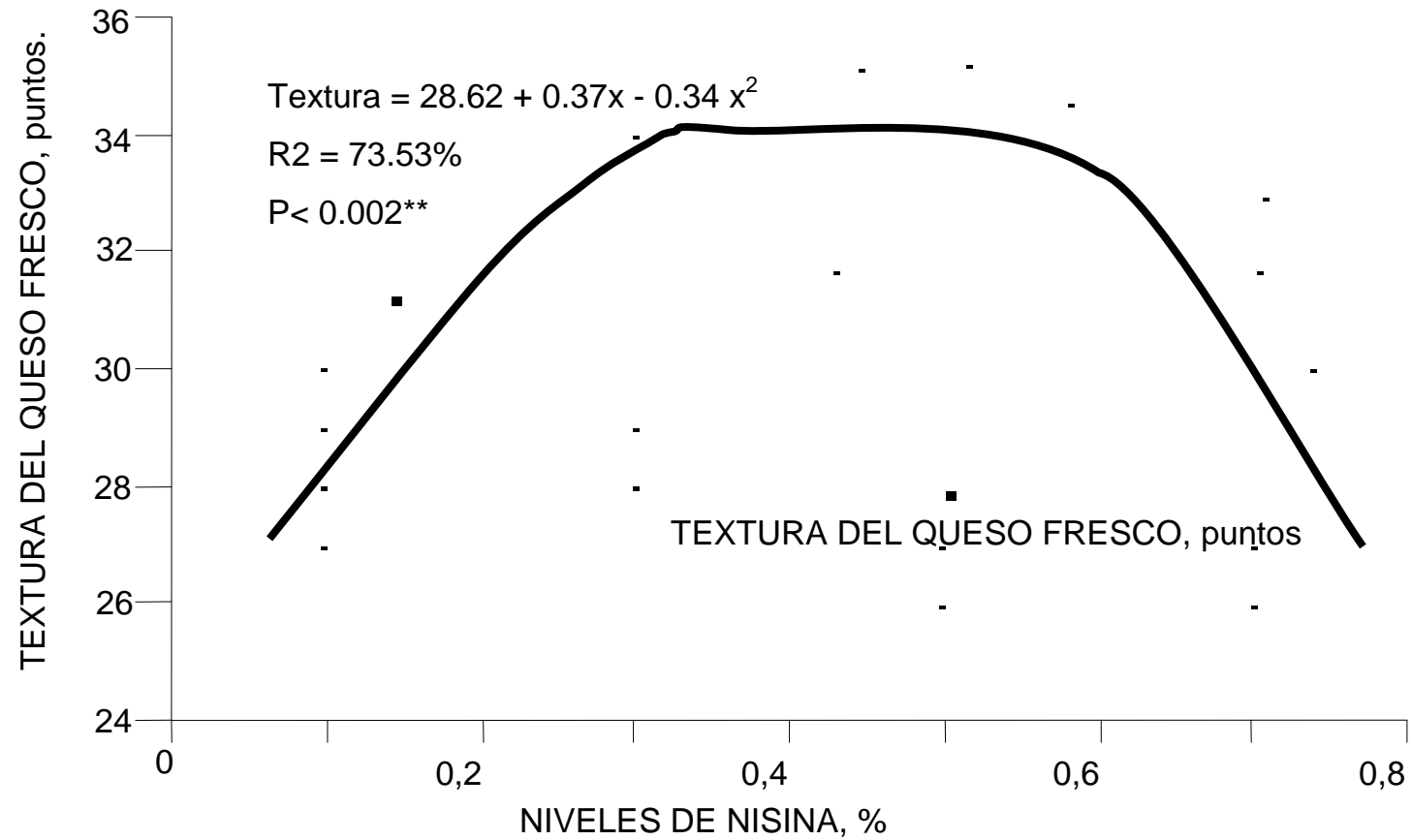


Gráfico 26. Regresión de la textura del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

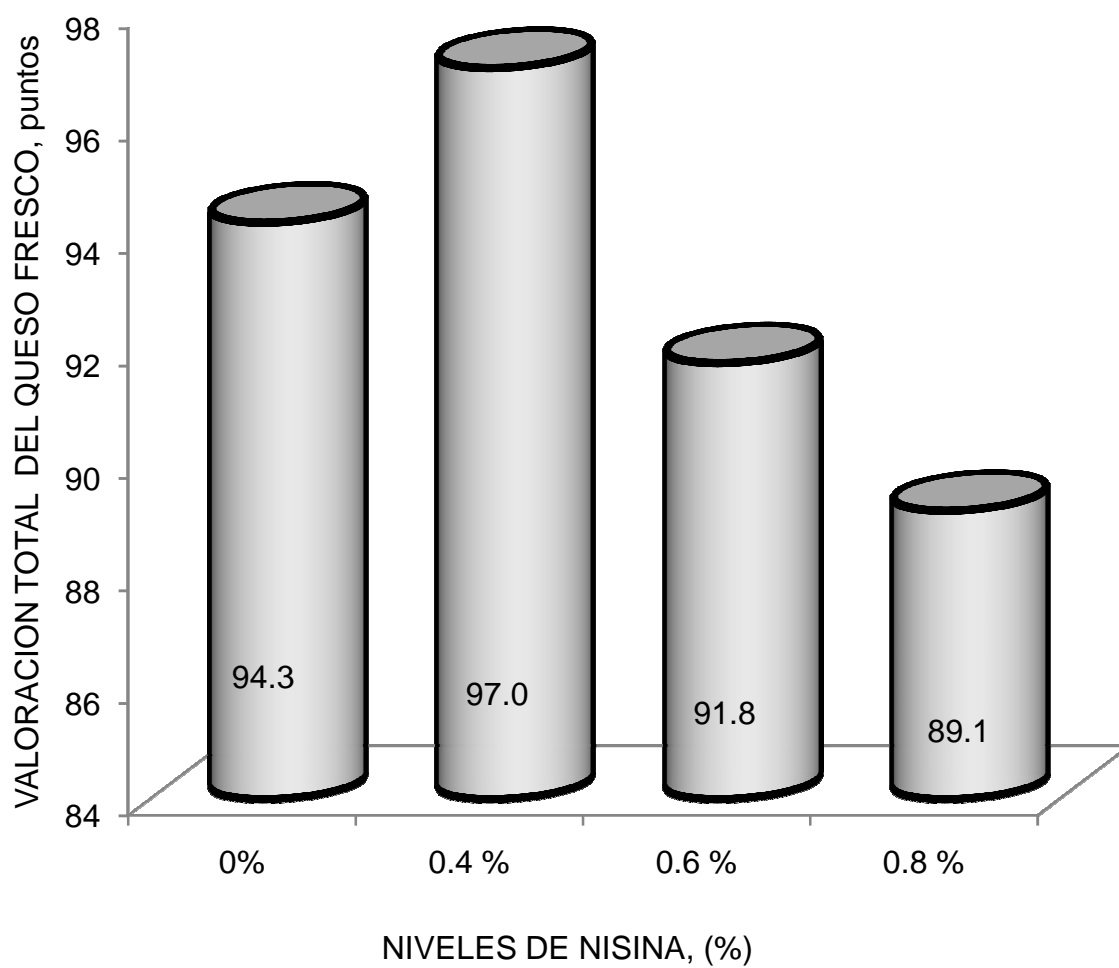


Gráfico 27. Comportamiento de la valoración total del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

finalmente ubicarse los quesos que registraron las valoraciones más bajas de la investigación y que fueron de 89,13 puntos los productos elaborados con 0.8 % de nisina (T3) por lo que de acuerdo a la escala de valoración de los alimentos propuesta por Witting, E. (1981), les corresponden a todos los quesos una calificación de Muy Buena, considerándose por tanto que la nisina no altera las características organolépticas sino que como es un bactericida se efecto está centrado en el control del desarrollo de microorganismos que alteran la calidad del queso.

Finamente es necesario acotar lo que manifiesta Castro, G. (2009) que la calidad sensorial total referida a un alimento, es la que más valora el consumidor, el análisis sensorial es el examen de las propiedades organolépticas de un producto utilizando los órganos de los sentidos. No es una característica intrínseca sino una interacción entre el alimento y el consumidor, dependiendo de las condiciones fisiológicas, psicológicas y culturales del mismo. El sabor dulce en algunos quesos tiernos, muchas veces relacionado con la pasterización o el calentamiento de la cuajada provoca una sensación agradable. El queso tiene vida propia y evoluciona, por ello es muy importante el cuidado de sus características organolépticas para favorecer su mayor aceptación y que mejor que con la aplicación de un antibiótico que no provoca desmedro en este sentido y mas bien eleva su calidad microbiológica al inhibir el crecimiento bacteriano, (nisina).

Según el gráfico 28, en el que se ilustra el análisis de regresión se puede manifestar que la valoración total del queso fresco depende en un 72.19 % (R^2) de los niveles de nisina, a la vez que está relacionada estadísticamente ($P < 0.01$), a una regresión cubica , cuya ecuación es $y = 94.25 + 10.29x - 9.31 x^2 + 1.77 x^3$, es decir que por cada unidad de cambio en el nivel de nisina la valoración total inicialmente se eleva en 10.29 unidades para posteriormente al incluirse niveles de 0.6 % de nisina decrecer en 9.31 y finalmente con la aplicación de 0.8 % de nisina la valoración total se incrementa en 1.77 unidades.

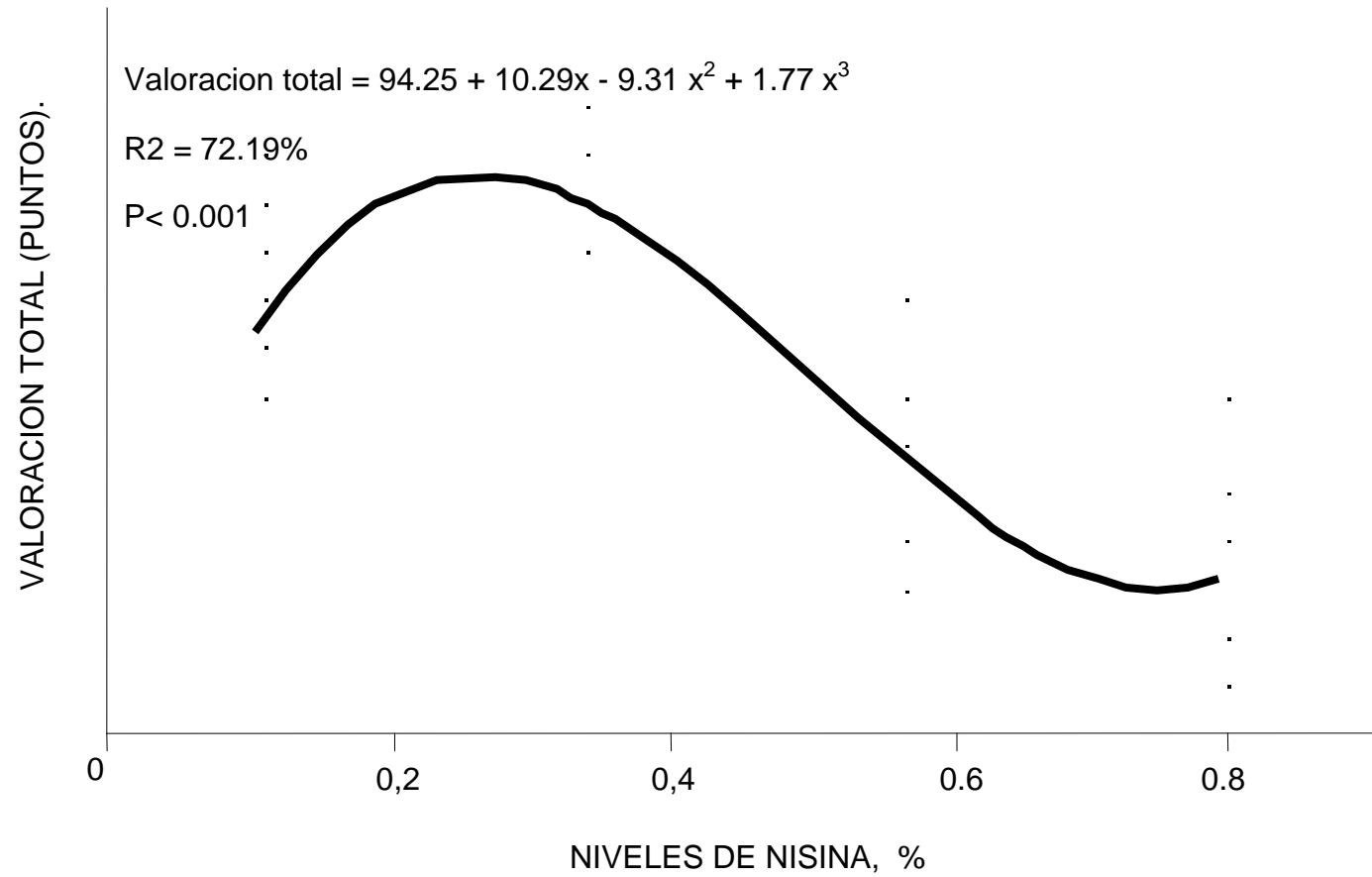


Gráfico 28. Regresión de la valoración total del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

D. VIDA DE ANAQUEL SEGÚN EL CONTENIDO MICROBIOLÓGICO DEL QUESO FRESCO ELABORADO CON LA ADICIÓN DE DIFERENTES NIVELES DE NISINA COMO ANTIBIÓTICO

Al evaluarse la vida de anaquel del queso fresco elaborado con diferentes niveles de nisina a los 5 días de almacenamiento no se determinó la presencia de microorganismo patógenos es decir conservo las características organolépticas, físico químicas y microbiológicas iniciales, es decir que no se inició el proceso de descomposición. A los 10 días de almacenamiento se determinó la presencia de coliformes totales, en cantidades que presentaron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$), determinándose que al utilizarse 0.4 % de nisina el contenido bacteriológico fue el más bajo reportándose una media de 6,13 UFC/g, mientras que en el grupo control y al adicionar 0.6 % de nisina se reportó un contenido de coliformes fecales promedio de 7,10 y 8,20 UFC/ g respectivamente. Finalmente los quesos que mayor contenido de este tipo de bacterias registraron fueron los elaborados con la adición de 0.8 % de nisina con medias de 9,13 UFC/g a los 10 días de almacenamiento y que son indicios de que se ha iniciado el proceso de descomposición pero todavía se los puede considerar productos aptos para el consumo, como se indica en el cuadro 13 y gráfico 29.

En lo que tiene que ver con el contenido de mohos y levaduras a los 10 días de almacenamiento se puede registrar los más bajos contenidos en los quesos del tratamiento T1 con medias de 5,75 UFC/g y los mas altos en los quesos del tratamiento T3 con 6,13 UFC/g, concordando con los reportes del contenido de coliformes fecales, por lo que se puede decir que la mejor opción para elaborar queso fresco es la adición de 0,5 g de nisina ya que controla el aparecimiento de bacterias que descompongan el queso a los 10 días de almacenamiento.

La vida de anaquel de los quesos frescos a los 15 días registran un comportamiento similar que en la fase anterior es decir que con la aplicación de 0.4 % de nisina se reporta los contenidos más bajos de coliformes totales, mohos y levaduras en el producto del tratamiento T1(0.4 % de nisina) con medias de 6,49 UFC/g y 4,80 UPC/g respectivamente, que son indicativos claros de que

Cuadro 13. VIDA DE ANAQUEL EN FUNCION DEL CONTENIDO MICROBIOLÓGICO DEL QUESO FRESCO ELABORADO CON DIFERENTES NIVELES DE NISINA COMO ANTIBIÓTICO.

Parámetros	Niveles de nisina								Prob.	Sign
	Testigo	0,4		0,6		0,8				
COLIFORMES TOTALES, UFC/G										
a los 5 días	Negativo		Negativo		Negativo		Negativo			
A los 10 de almacenamiento	7,10	b	6,13	a	8,20	c	9,13	d	0,001	**
a los 15 días de almacenamiento	7,80	ab	6,49	a	8,9	b	9,67	c	0,003	**
a los 20 días de almacenamiento	8,10	b	6,98	a	9,32	b	10,23	c	0,03	*
MOHOS Y LEVADURAS, UPC/G										
a los 5 días	Negativo		Negativo		Negativo		Negativo			
A los 10 de almacenamiento	5,75	b	4,75	a	5,38	b	6,13	c	0,001	**
a los 15 días de almacenamiento	5,98	b	4,80	a	5,67	b	6,79	c	0,02	*
a los 20 días de almacenamiento	6,1	c	4,98	a	5,75	b	6,98	c	0,04	*

Fuente: Aguirre, C. (2011).

ns : P>0.05, No existen diferencias estadísticas

* P<0.01, existen diferencias altamente significativas.

** Medias con letras diferentes en una misma fila, difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey (p < 0.05).

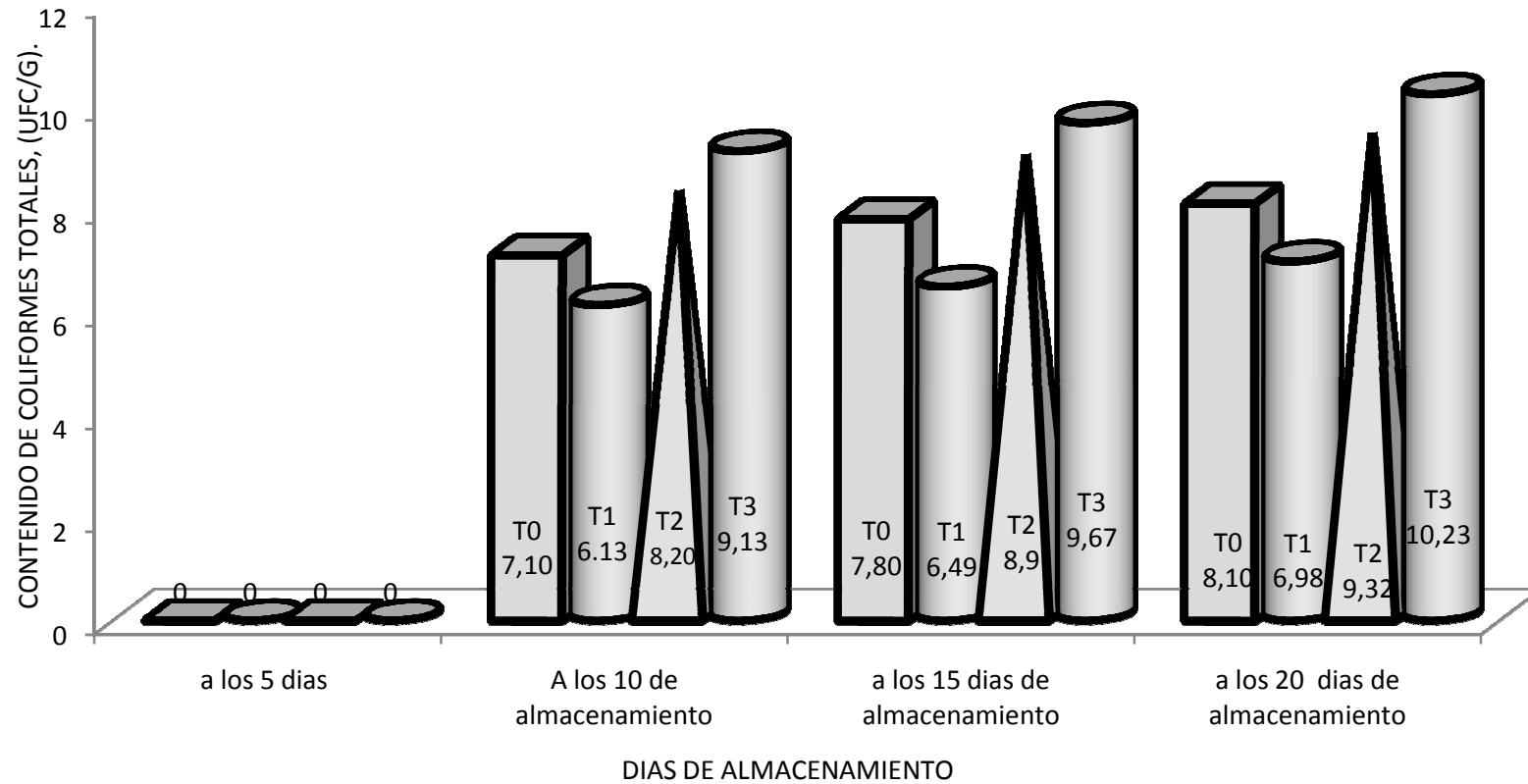


Gráfico 29. Comportamiento del contenido de coliformes totales del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

aun no se inicia la descomposición del queso y que puede ser consumido ya que no superan los límites referenciales, los mismos que van ascendiendo a 7,80 y 5,98 en los quesos del grupo control como también 8,9 y 5,67 en los quesos del tratamiento T2, en tanto que el mayor contenido de bacterias y mohoso fue identificado en los quesos del tratamiento T3 con 9,67 UFC/g y 6,79 UPC/g.

Finalmente a los 20 días de almacenamiento el contenido tanto de coliformes totales como de mohos y levaduras en el queso como se ilustra en el gráfico 30, se reportan diferencias estadísticas ($P < 0,03$), entre medias por efecto del nivel de nisina aplicado, registrándose los promedios más bajos y que corresponden a 6,98 UFC/g y 4,98 UPC/g, con la incorporación de 0.4 % de nisina (T1) en la elaboración del queso fresco, y que asciende a 8,10 UFC/g y 6,10 UPC/g en los quesos del grupo control mientras que al aplicar 0.6 % de nisina el contenido microbiano sigue ascendiendo y reporta 9,32 UFC/g en coliformes totales y 5,75 UPC/g en mohos y levaduras. Finalmente los más altos contenidos de estos microorganismos se registraron con la aplicación de 0.8 % de nisina (T3), ya que registraron promedios de 10,23 UFC/g y 6,98 UPC/g respectivamente.

Considerándose según el análisis de los reportes antes mencionados que ha esta etapa de almacenamiento del queso ya se puede considerar que el producto no es apto para el consumo humano pues está superando los límites de las exigencias de calidad de la elaboración del queso fresco por parte del Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), 1996. Lo que puede deberse a lo que señala <http://www.nutricionyrecetas.com>. (2009), en que los conservantes y antibióticos alimentarios, a las concentraciones autorizadas, no matan en general a los microorganismos, sino que solamente evitan su proliferación. Aunque su eliminación sería imposible, por cuanto <http://www.doschivos.com>. (2009), señala que los mohos tienen la capacidad de adaptarse a condiciones del entorno que no todos los microorganismos son capaces de tolerar, como un nivel de acidez o basicidad en un rango mayor que las bacterias, debido a que viven desde 2 hasta un valor de 9 de pH. Por otra parte, las cantidades encontradas a los 21 días de almacenamiento, presentan ser notablemente inferiores a las reportadas por Paucar, S. (2006), quien en quesos semiduros, determinó cantidades de 5400 a

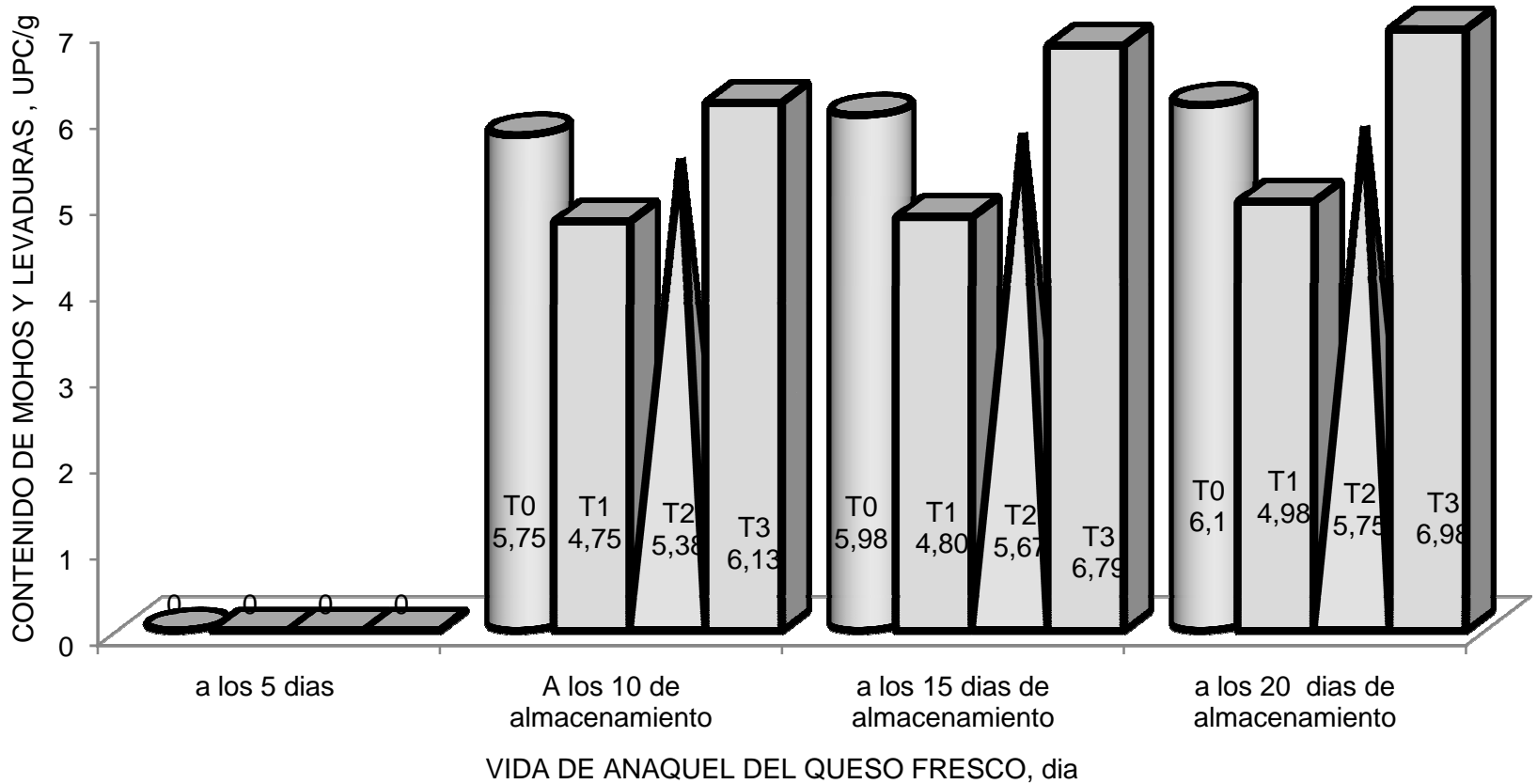


Gráfico 30. Comportamiento del contenido de mohos y levaduras del queso fresco elaborado con la adición de diferentes niveles de nisina como antibiótico.

8200 UPC/g, al emplear sales fundentes, por lo que se ratifica que el empleo de los antibióticos beneficia la calidad sanitaria de los quesos, ya que según Madrid, A. (1999), los antibióticos tienen la capacidad de inhibir el desarrollo de las bacterias ácido butírico y *Coli aerogenes*, mientras que no afectan a las bacterias lácticas, siempre que no se sobrepasen las dosis requeridas, por cuanto su exceso puede detener el proceso de maduración del queso por el poder inhibitorio de una fuerte dosis sobre todo tipo de microorganismos, así como propiciar sabores extraños y desagradables en los quesos terminados.

E. ANÁLISIS ECONÓMICO DEL QUESO FRESCO ELABORADO CON LA ADICIÓN DE DIFERENTES NIVELES DE NISINA COMO ANTIBIÓTICO

Al realizar el análisis económico del queso fresco elaborado con diferentes niveles de nisina que se indican en el cuadro 14, establece que los egresos más altos fueron los reportados en los quesos del tratamiento T3 con 117,87 USD, y que desciende a 115,15 y 110,45 dólares americanos, en tanto que los egresos más bajos fueron registrados en los quesos del grupo control con 88, 12 dólares. Al determinar los ingresos ocasionados por la venta de queso y suero y que fue de 100,75 dólares para los quesos del grupo control, 132,75 para los quesos del tratamiento T1 y 132,75 dólares para los quesos de los tratamientos T2 y T3. Con lo que podemos determinar el beneficio costo más alto en los quesos del tratamiento T1 (0.4 % de nisina), que reportó un valor promedio de 1,20 y que quiere decir que por cada dólar invertido se espera una ganancia de 20 centavos o lo que es lo mismo decir una rentabilidad del 20%, además el queso producido presentó las mejores características físico químicas, bajo contenido de microorganismos patógenos, como también altas calificaciones sensoriales, el mismo que descendió en los quesos del tratamiento T2 (0.6 % de nisina), a 1,15 o lo que es lo mismo decir el 15% de ganancia y que es ligeramente superior al beneficio económico registrado por los quesos del grupo control que reportaron beneficios de 1,14 o el 14% de rentabilidad, finalmente el beneficio costo más bajo fue el registrado por los quesos del tratamiento T3 (0.8 % de nisina) con 1,13 o el 13% de rentabilidad. Sin embargo al realizar un análisis general de cada uno de los beneficios registrados podemos ver que son interesantes.

Cuadro 14. COSTOS DE LA INVESTIGACIÓN.

Materia Prima	Cantidad	NIVELES DE NISINA			
		Sin Nisina	Nisina 0,4%	Nisina 0,6%	Nisina 0,8%
Leche	640 lt	48	48	48	48
ADITIVOS					
Cuajo	42ml	0,21	0,21	0,21	0,21
Nisina	540g		22,34	27,04	29,76
Cloruro Calcio	120g	0,024	0,024	0,024	0,024
Sal Yodada	6kg	0,56	0,56	0,56	0,56
Reactivos					
Fenolftaleína	100ml	4,25	4,25	4,25	4,25
Alcohol	100ml	1	1	1	1
Hidróxido de Sodio	500ml	5	5	5	5
MATERIALES					
Fundas	160	0,8	0,8	0,8	0,8
Balde plástico	1 unid	1,5	1,5	1,5	1,5
Jarra 1 lt	1 unid	0,15	0,15	0,15	0,15
Equipo					
Alquiler de equipo	30dias	25	25	25	25
Desinfectantes					
Detergente liquido	1lt	0,37	0,37	0,37	0,37
Materiales de oficina					
Rotulación	1unid	1,25	1,25	1,25	1,25
TOTAL EGRESOS		88,12	110,45	115,15	117,87
INGRESOS					
Venta de quesos	144	100	132	132	132
Venta de Suero	100LT	0,75	0,75	0,75	0,75
TOTAL INGRESOS		100,75	132,75	132,75	132,75
BENEFICIO/COSTO		1,14	1,20	1,15	1,13

Fuente: Aguirre, C (2011).

V. CONCLUSIONES

Las conclusiones que se derivan de los resultados obtenidos son las siguientes:

- De acuerdo a los resultados experimentales obtenidos, se concluyó que la adición de la nisina a diferentes niveles (0.4; 0,6 y 0.8 %), en comparación de un tratamiento testigo (sin nisina) si afectaron las propiedades físico-químicas del queso fresco, reportando los mejores contenidos de grasa (30,95%), proteína (17,77) con un pH neutro (7,14), con la aplicación de 0.4 %de nisina (T1).
- Los análisis microbiológicos determinaron la ausencia de salmonella en todas las muestras de queso fresco, en cambio los contenidos mas bajos de *Estafilococcus* (0) se los registro en los quesos del tratamiento T3 y *Eschericha Coli* se registraron con la incorporación de 0.4 % de nisina (T1) con medias de 118, y que no superan los límites exigidos por las Normas Técnicas de Calidad en la elaboración del queso del INEN (1996)
- La preferencia de los consumidores mediante la evaluación de las características organolépticas, determinan que diferencias estadísticas entre los quesos elaborados con diferentes niveles de nisina, por cuanto las mayores valoraciones totales fueron al incorporar 0.4 % de nisina (T1) con una calificación de 97 puntos sobre 100 de referencia que de acuerdo a la escala propuesta por Witting, E. (1981), les corresponde a todos una calificación de Muy buena y que descendió a 94,25 puntos en el grupo control y 91,75 punto en los quesos del tratamiento T2 , en tanto que las valoraciones mas bajas fueron las registradas en los quesos del tratamiento T3 con 89,13 puntos..
- El mejor beneficio costo fue el registrado por los quesos del tratamiento T1 (0.4 % de nisina), con un valor nominal de 1,20 o lo que es lo mismo decir el 20% de utilidad y que descendió a 1,14 y 1,15 en los quesos del tratamiento control y tratamiento T2 , mientras que el menor B/C fue el reportado en los quesos del tratamiento T3 con 1.13.

VI. RECOMENDACIONES

- Utilizar en la elaboración de quesos fresco 0.4 % de nisina (T1), por cuanto no se alteran las propiedades físico-químicas y organolépticas, por el contrario favorece la vida de anaquel, al evitar la proliferación de microorganismos que pueden deteriorar su calidad, así como se alcanza una mayor rentabilidad económica y que corresponde a 20 % en un mes de ejercicio.
- Se recomienda la aplicación de 0.4 % de nisina (T1), como antibiótico, ya que produce los mejores resultados en el contenido de proteína que es muy importante para la nutrición de las personas y además registra el contenido graso más bajo lo que amplía la vida de anaquel del queso fresco que es un factor muy importante en la industria láctea.
- Al no influir negativamente la nisina sobre las calificaciones sensoriales del queso fresco se recomienda su uso en niveles de 0.4 % ya que es un antibiótico de amplio espectro que permite que el producto elaborado mantenga una mayor certificación de asepsia ya que se evitara la proliferación de bacterias patógenas que pueden influir en la salud de la persona que lo consume no sobre todo los estudios realizados demuestran que no tiene efectos colaterales.

VII. LITERATURA CITADA

1. ALONSO, D. 2002. Producción casera de mantequilla, quesos y yogurt. 1a ed. Barcelona, España Edit. Aura, pp 10-15.
2. COSTE, E. 2005. Análisis Sensorial de Quesos. 1a ed. Zamora, España. Edit. Univ. Nacional Lomas de Zamora. pp 2 -10.
3. CASTRO, G. 2009. Efecto de la incorporación de nisina sobre la supervivencia del *Staphylococcus aureus* en queso de mano. , Maracay, Venezuel. Edit Laboratorio de Bioquímica de Alimentos del Instituto de Química y Tecnología, de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela. pp 67 - 69.
4. ELEY A. 1994. Population reductions of Gram-negative pathogens following treatments with nisin and chelators under various 2a ed. Texas, Estados Unidos Edit Dayri J. pp- 45 - 56
5. FRANKEL, R. 1999. Aditivos. 1a ed. Buenos Aires, Argentina. Edit. Albatro. pp12-13.
6. FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZACION (FAO). 2000. Composición nutritiva del Queso. sn. Santiago de Chile, Chile. Edit Limusa. pp. 16-23.
7. ECUADOR. INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACION. INEN. Norma 1528. Normas para la elaboración del queso Quito - Ecuador.
8. ECUADOR. INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACION. INEN. Norma Técnica INEN 1529 (1996), salmonella

9. ECUADOR, ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO (ESPOCH). 2007. Estación Meteorológica, Facultad de Recursos Naturales. Riobamba, Ecuador.
10. ELEY A. 1994. Intoxicaciones alimentarias de etiología microbiana. sn. Zaragoza, Espana. Edit. Acribia. pp 25 - 43.
11. GONZALES, M. 2002. Tecnología para la elaboración de queso blanco. sn. Veraguas, Panama. Edit. Liberti. pp. 56 - 68.
12. <http://www.consumaseguridad.com>. 2003. Cunningham, A. Aplicación de la nisina en los diferentes productos.
13. <http://www.consumaseguridad.com>. 2003. Fundación Grupo Eroski. El queso su elaboración y comercialización.
14. <http://www.consumaseguridad.com>. 2003. Herrera, M. Efecto de la nisina en la elaboración de quesos.
15. <http://www.doschivos.com>. 2009. Jarrin, J. Los Conservantes en los Alimentos.
16. <http://www.sica.gov.ee>. 2009. Jozala, A. Elaboración de diferentes tipos de queso.
17. <http://www.consumer.es>. 2009. Miró, A. Carga microbiana en el queso fresco.

18. <http://www.Queseriaemprendedora.com>. 2004. Morales, D. Elaboración del queso fresco
19. <http://www.Proquisa.com>. 2009. Novaes, L. Características físico químicas de la nisina.
20. <http://www.nisinima.com>. 2009. Penna, T. Contenido microbiológico en la elaboración de quesos.
21. <http://www.doschivos.com>. 2009. Rilla, N.; Proceso de elaboración del queso
22. <http://www.nutricionyrecetas.com>. 2009. Rodríguez, A y Sermeño, A. Recetario de Quesos Salvadoreños. MAG-FAO.
23. <http://www.industrializaciondelaleche.com>. 2009. Roessler, E. Elaboración de queso fresco con diferentes aditivos.
24. <http://www.escherichiacoli.com>. 2010. Samelis, J.; Componentes del queso fresco
25. <http://www.laenciclopedia.libre.com>. 2003. Vargas, A. Utilización de la nisina.
26. <http://www.quimicanet.com> 2009. Yock, I. La nisina como antibiótico en la elaboración de productos lácteos.
27. <http://www.nutricionyrecetas.com>. 2009. González, L.; Propiedades antimicrobianas básicas

28. MADRID, A. 1999. Tecnología Quesera. 2a ed. Madrid, España. Edit. Mundi Prensa. pp 15-26.
29. MAYER. M. 2000. Calidad microbiológica de los quesos blancos venezolanos. 1a ed. Edit Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". Caracas, Venezuela. pp 12 -18.
30. MALDONA, R. y LLANCA, L. 2007. Efecto de la incorporación de nisina sobre la supervivencia del *Staphylococcus aureus* en queso maduro. sn. Maracay, Venezuela. Edit. Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, pp. 23 -56.
31. MONTGOMERY, D. 1991. Diseño y análisis de experimentos. 3a ed. Guanajuato, México. Edit. Iberoamericana. pp. 589 - 593.
32. NUÑEZ, M. y MEDINA, M. 2005. Antimicrobial activity of pediocin-producing *Lactococcus lactis* on *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. sn. Texas, Estados Unidos. Edit. Dairy J. pp 51-57.
33. PAUCAR, S. 2006. Elaboración de queso fundido mediante la utilización de tres tipos de sales fundentes (citrato de sodio, citrato de calcio y citrato de potasio). Tesis de grado. Facultad de Ciencias Pecuaria, ESPOCH. Riobamba, Ecuador. pp. 45-60.
34. PEREZ, A. 2001. Determinación del rendimiento y calidad en quesos semimaduros (andino y tilsit) al utilizar la leche de vacas Holstein frisian, Jersey y Brown swiss. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador, pp 26-35.

35. PORTER, N. 1981. La ciencia de los alimentos. 2a ed. Madrid, España. Edit Aria. pp 15 – 52.
36. REVILLA, A. 1996. Tecnología de la leche. 1a ed. Tegucigalpa, Honduras. Edit. Instituto de cooperación para la Agricultura. pp 4 -8.
37. RODRIGUEZ, J. 1996. Review: Antimicrobial spectrum, structure, properties and mode of action of nisin, a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis*. Londres, Inglaterra . Edit. Food Science and Technology International pp 61-68.
38. SALINAS, B. 2001. Producción de queso tipo blanco, utilizando como cultivos iniciadores bacterias productoras de bacteriocinas.. Facultad de Ciencias, Universidad del Zulia. Trabajo de Grado. Pp 140 - 145.
39. SALAMANCA, F. 2007. Productos lácteos como alternativa alimentaria para productos funcionales de alto valor nutricional. Vol. 2. Tolima, Colombia. Edit Facultad de Ciencias de la Universidad del Barrio Santa. pp. 57- 64.
40. SANCHEZ, J. 2005. El queso. 1a ed. Lima, Peru. Edit. Infoalimentos. pp. 9-10.
41. VEISSEYRE, R. 1988. Lactología tecnica. 2a ed. Zaragoza, Espana. Edit. Acribia. pp 28-33.
42. WITTING, E. 1981. Evaluación sensorial. Una metodología actual para tecnología de alimentos. 1a ed. Santiago, Chile. Edit. Talleres gráficos USACH. pp 4 – 12.

