



## Artículo

# Estudio del efecto de una película antimicrobiana en la vida útil del queso Costeño

Study of the effect of an antimicrobial film on the shelf life of Costeño cheese

Margarita Rosa **Arteaga Márquez**<sup>1</sup>, Reynaldo **Espitia Petro**<sup>1\*</sup>, Erika Patricia **Ramírez Coronado**<sup>1</sup>,  
Cristian Camilo **Hernández Bedoya**<sup>2</sup>, Linda **Chams Chams**<sup>2</sup>, Dargin Lucía **Espitia Petro**<sup>3</sup>,  
Walter J. **Martínez B.**<sup>4</sup>

Universidad de Córdoba, Facultad de Ingeniería<sup>1</sup> - Facultad de Ciencias de la Salud<sup>2</sup> - Facultad de Ciencias Básicas<sup>3</sup>. Montería, Córdoba, Colombia.

<sup>4</sup>Universidad del Norte, Facultad de Ingenierías. Barranquilla, Atlántico, Colombia.

\*Autor para correspondencia: respitiap@correo.unicordoba.edu.co

Aceptado 28-Agosto-2015

## Resumen

Se estudió el efecto de una película antimicrobiana en la vida útil del queso Costeño elaborado a diferentes concentraciones de cloruro de sodio (2,5 % p/p sin cubrimiento de película; 2,5 y 3,0 % p/p cubierto con película antimicrobiana), almacenado (0, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 días) a temperaturas de  $12 \pm 1$  °C y  $28 \pm 2$  °C. El principio activo fue nisina (16 mg/100 mL de solución). Se realizaron análisis químicos (pH, acidez titulable, materia grasa y humedad), microbiológicos (recuentos de coliformes, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, detección de *Salmonella* y recuento de mohos y levaduras) y sensoriales (pruebas de ordenación por atributos y de escala hedónica). Los resultados mostraron que para los quesos almacenados a  $12 \pm 1$  °C, no hubo diferencias estadísticas significativas en el comportamiento del pH, y para la acidez se encontraron diferencias estadísticas significativas los días 15, 20, 25 y 30. Respecto al contenido de cloruro de sodio se obtuvo mayor pérdida de humedad y aumento en el contenido de materia grasa con diferencias estadísticas significativas los días 30 y 5 para los quesos almacenados a  $12 \pm 1$  °C y  $28 \pm 2$  °C, respectivamente. La temperatura a  $12 \pm 1$  °C fue el factor más influyente en la conservación del queso. Los tratamientos con

cubrimiento de película fueron aceptados sensorialmente durante los 30 días de estudio y hubo diferencia respecto al sabor los días 20 al 30. El tratamiento control presentó crecimiento visible de mohos y levaduras el día 15. La película antimicrobiana ejerció un efecto inhibitorio sobre *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva en los quesos.

**Palabras claves:** nisina, película antimicrobiana, queso Costeño, temperatura, vida útil.

### Abstract

The effect of an antimicrobial film was studied in shelf life of Costeño cheese prepared at different concentrations of sodium chloride (2.5 % w/w without a covering film, 2.5 and 3.0 % w/w covered with antimicrobial film), stored (0, 5, 10, 15, 20, 25 and 30 days) at  $12 \pm 1$  °C y  $28 \pm 2$  °C. The active ingredient was nisin (16 mg/100 mL of solution). Chemical analyzes (pH, titratable acidity, fat and moisture), microbiological (coliforms counts, *Escherichia coli*, coagulase positive *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* and enumeration of molds and yeasts) and sensory tests (sorting by attributes and hedonic scale) were performed. The results showed that for the cheese stored at  $12 \pm 1$  °C, there were no statistically significant differences in the behavior of pH, and for acidity, statistically significant differences were found at days 15, 20, 25 and 30. With respect to the content of sodium chloride, there was a greater loss of moisture and increase of the fat content, presenting statistically significant differences at days 30 and 5 in stored cheese at  $12 \pm 1$  °C and  $28 \pm 2$  °C, respectively. The temperature at  $12 \pm 1$  °C was the most influential factor in cheese conservation. Treatments with antimicrobial film were sensorially accepted until 30 days, and there was a difference in taste (days 20 to 30). The control treatment presented visible growth of molds and yeasts at day 15. The antimicrobial film exerted an inhibitory effect on coagulase positive *Staphylococcus aureus* in cheeses.

**Keywords:** antimicrobial film, Coastal cheese, nisin, shelf life, temperature.

## INTRODUCCIÓN

El queso Costeño es un producto autóctono de la Costa Atlántica Colombiana, el cual se produce de forma artesanal utilizando leche cruda como materia prima y elaborado bajo las mínimas condiciones higiénicas sanitarias, por lo que se considera un medio propicio para la proliferación de microorganismos. Entre las bacterias patógenas, *Listeria monocytogenes* por su mayor prevalencia, agente causal de Listeriosis, una de las enfermedades más importantes adquirida en el 99 % de los casos por el consumo de alimentos contaminados (Carrascal-Camacho *et al.*, 2013).

El queso, debido a su composición fisicoquímica, pH y actividad de agua, es un alimento de alto riesgo a nivel mundial, sobre todo porque generalmente se consume en fresco. En un trabajo realizado por Gallegos *et al.* (2007), en los municipios Montería y Cereté (Departamento de Córdoba, Colombia), señalaron que el queso Costeño allí producido, a menudo están contaminados con *Listeria* spp., *Listeria ivanovii* involucrada en algunos casos de infecciones oportunistas en seres humanos y *Listeria innocua*, microorganismo empleado en el sector industrial de alimentos como indicador de la calidad de sanitización.

En el Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (SIVIGILA) durante el período

2008-agosto de 2010, se informaron 2 brotes asociados al consumo de leche, donde los microorganismos involucrados fueron *Escherichia coli* y *Staphylococcus* coagulasa positiva; y en el Informe de Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAs) de 2010 del Instituto Nacional de Salud se informaron 147 (16,5 %) brotes asociados al consumo de queso de 899 brotes notificados donde los microorganismos implicados fueron *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Salmonella* spp., *Proteus* spp., *Bacillus cereus*, *L. monocytogenes* y *Shigella* spp. (INS, 2011). Lo anterior puede atribuirse a las deficientes prácticas de manufacturas en las que se elabora el producto y también al uso de leche cruda, en vez de pasteurizada.

El Ministerio de Salud de la República de Colombia en su Resolución número 02310 de 1986, en el Capítulo VII, Artículo 49, Parágrafo 1, declara lo siguiente: “No se permite la elaboración de queso fresco para consumo humano a partir de leche cruda, salvo en los casos en que por las condiciones especiales de ubicación, dificultades de transporte, sistema de producción y un volumen de producción menor de 500 litros/día, la autorice el Ministerio de Salud o su autoridad delegada” (MinSalud, 1986). Dando espacio lo anterior para la producción de queso utilizando leche cruda, por parte de los pequeños productores del Departamento de Córdoba; sin embargo, los mismos no cuentan con una autoridad delegada por el Ministerio de Salud que controle tal situación, y se hace necesario brindarles una alternativa para que continúen con su actividad.

Se ha optado por la nisina como opción para disminuir la carga microbiana en diferentes variedades de queso. Pinto *et al.* (2011) describieron que la nisina es producida por ciertas cepas de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* y exhibe actividad antimicrobiana contra una amplia gama de esporas y bacterias Gram-positivas, incluyendo *Staphylococcus*. Se ha sugerido como antimicrobiano natural para ser

utilizado como bioconservante en los alimentos, incluyendo productos lácteos, y se considera generalmente como seguro. Además, agregan los autores que, la nisina es la única bacteriocina autorizada para su uso en la industria alimentaria y muchos estudios recientes han demostrado su efectividad.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de una película antimicrobiana en la vida útil del queso Costeño, a través de análisis microbiológicos, fisicoquímicos y sensoriales, durante un periodo de 30 días.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en la planta piloto del programa de Ingeniería de Alimentos de la Universidad de Córdoba (Sede Berástegui), ubicada en el kilómetro 12, vía Cereté-Ciénega de Oro (Córdoba, Colombia). Los análisis fisicoquímicos y sensoriales se realizaron en el Laboratorio de Lactología y en el de Análisis de Alimentos de la Universidad de Córdoba (Sede Berástegui), y los análisis microbiológicos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Investigación en Microbiología de Alimentos, perteneciente al programa de Bacteriología de la misma universidad (Sede central).

### Elaboración de películas antimicrobianas

Las películas antimicrobianas se elaboraron según la metodología descrita por Chams-Chams (2013), con algunas modificaciones. Se prepararon 650 mL de soluciones acuosas de CMC (Cimpa® S. A. S., Bogotá, Colombia) a 2,46 % p/v a temperatura de 80 °C en baño de maría, durante un tiempo de 15 minutos, seguidamente las soluciones se llevaron a 60 °C y se adicionaron 30 mL de glicerol como agente plastificante y nisina comercial al 98 % (Cimpa® S. A. S., Colombia) como agente antimicrobiano en concentraciones de 16 mg/100 mL. Finalmente,

se homogenizaron las emulsiones y se esparcieron en cajas de vidrio de 50 x 25 cm, luego se secaron a 60 °C por 72 horas, en estufa, marca BINDER, modelo ED 23 (BINDER GmbH, Tuttlingen, Alemania).

### Leche cruda y análisis fisicoquímicos

Se recibieron 400 L de leche cruda, proveniente de los hatos de la Universidad de Córdoba (Sede Berástegui), la recolección se hizo durante el ordeño de la mañana a temperatura ambiental ( $18 \pm 2$  °C), en canecas previamente lavadas y esterilizadas. Posteriormente, la leche se llevó a la planta piloto, durante un recorrido de 30 minutos, se almacenó a  $8 \pm 2$  °C por 3 horas y se tomaron 3 muestras de 10 mL a las que se realizaron las siguientes mediciones: temperatura (°C), materia grasa (%), sólidos no grasos (%), densidad (g/mL), proteína (%), lactosa (%), agua adicionada (%), temperatura de congelación (°C) y sólidos totales (%) mediante el analizador de leche LAC-60 (Boeckel + Co (GmbH + Co) KG, Hamburg, Alemania) (Fig. 1). Se midió el pH con un pHmetro marca ION, modelo pHB-500 (IONLAB, Curitiba, Brasil) por inmersión del electrodo en la muestra y previa calibración, a través del método AOAC 981.12 (AOAC, 2005), acidez titulable (% ácido láctico) siguiendo el método AOAC 942.15 (AOAC, 1990) y también se realizó recuento de células somáticas por medio del contador DeLaval (DeLaval International AB, Tumba, Suecia).

### Elaboración de los quesos

Para la elaboración de los quesos se siguió el procedimiento descrito por Calderón *et al.* (2011) con omisión del proceso de pasteurización de la leche. Se emplearon 400 L de leche de bovinos con acidez no mayor de 0,20 % de ácido láctico que luego se hizo pasar por un filtro desechable de papel para leche distribuido por INSMEVET S. en C. (Bogotá,



Figura 1.- Analizador de leche LAC-60.

Colombia). Posteriormente se ajustó la temperatura en un intervalo comprendido entre 33 y 35° C en una marmita de 200 L y se adicionó cloruro de calcio (Cimpa® S. A. S., Colombia), a razón de 20 g/100 L de leche. Seguidamente, se agregó el cuajo comercial marca MARSCHALL® (E. I. du Pont de Nemours and Company, Wilmington, DE, USA) a concentración 30 mL/10 L de leche y se agitó a 100 rpm durante 30 segundos. Se dejó en reposo durante 45 minutos y se hicieron cortes a la cuajada, nuevamente se dejó en reposo 5 minutos y se agitó lentamente hasta completar el desuerado; inmediatamente se adicionó 2 - 3 % de cloruro de sodio. Finalmente se le dio forma empleando moldes de acero inoxidable de 15 cm de arista y se prensó a 10 lbf empleando una prensa hidráulica, marca JAVAR® (JAVAR S. A. S., Bogotá, Colombia) durante un tiempo de 8 horas y se cubrieron con la película antimicrobiana (Fig. 2).



**Figura 2.-** Elaboración de queso y cubrimiento con película antimicrobiana.

### **Análisis químicos en los quesos**

El pH en los quesos se determinó con un pHmetro marca ION, modelo pHB-500 acorde al procedimiento de la AOAC 981.12 (AOAC, 2005). La acidez titulable se obtuvo siguiendo el método 942.15 de la AOAC (1990). Para la determinación de materia grasa se empleó el estándar IDF 152A:1997 (IDF, 1997). El contenido de humedad se determinó en base al estándar IDF 4A:1982 (IDF, 1982). Para todos los análisis se realizaron 3 repeticiones por cada muestra.

### **Análisis microbiológicos**

Los análisis microbiológicos se realizaron de acuerdo a lo establecido en la Norma Técnica Colombiana NTC 750 para productos lácteos (queso) (ICONTEC, 2009): recuento de coliformes (NMP/g), recuento de *E. coli* (NMP/g), recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva (bacterias/g), detección de *Salmonella* (en 25 g), y recuento

de mohos y levaduras (UFC/g). El procedimiento que se siguió para los análisis fue el descrito por la ICMSF (1984).

### **Análisis sensoriales**

#### **Prueba de ordenación por atributos**

Se empleó un panel no entrenado, constituido por 30 consumidores habituales de queso Costeño, estudiantes de la Universidad de Córdoba, 15 hombres y 15 mujeres con edades comprendidas entre 18 y 28 años. Los atributos evaluados fueron apariencia, sabor y textura en boca. La prueba se desarrolló siguiendo la metodología descrita por Lurueña-Martínez (2010).

#### **Prueba de escala hedónica**

Se diseñó una escala hedónica de 6 puntos (donde el punto 6 significó 'me gusta extremadamente' y el punto 1 'me disgusta extremadamente') mediante la cual fueron

evaluados los atributos apariencia, sabor y textura en boca, por 30 consumidores habituales de queso Costeño, estudiantes de la Universidad de Córdoba, 15 hombres y 15 mujeres con edades comprendidas entre 18 y 28 años. La metodología usada fue la propuesta por Hernández-Alarcón (2005).

### Diseño experimental

Se evaluó el efecto del tiempo, la temperatura de almacenamiento y la concentración de cloruro de sodio sobre la acidez titulable (% ácido láctico), el pH, materia grasa (%) y contenido de humedad (%) en el queso Costeño con película antimicrobiana; se empleó un diseño multifactorial a diferentes niveles, como se especifica a continuación: tiempo (0, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 días), temperatura ( $12 \pm 1$  °C y  $28 \pm 2$  °C) y porcentaje de cloruro de sodio (2,5 % p/p sin cubrimiento de película (TC); 2,5 y 3,0 % p/p cubierto con película antimicrobiana (T1 y T2, respectivamente)). El número de réplicas fue 3, para cada tratamiento.

### Análisis estadísticos

Donde se consideró necesario, se realizó análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza de 95 %, y de manera opcional, prueba de comparación de medias de Duncan. Se utilizó el software Statistical Analysis System, versión 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Calidad de la leche cruda

El Cuadro 1 muestra los promedios y la desviación estándar de los diferentes parámetros medidos en la leche.

Parámetros como la acidez (% ácido láctico) y la temperatura de congelación se encontraron fuera del intervalo especificado en

el Decreto 616 de 2006 referido al Reglamento Técnico sobre los requisitos que debe cumplir la leche en Colombia, el cual establece que estos deben estar entre 0,13 y 0,17 % de ácido láctico, y entre  $-0,530$  y  $-0,510$  °C, respectivamente (Diario Oficial, 2006). De acuerdo a Calderón-R. *et al.* (2007) y García de Ruiz *et al.* (2013), el porcentaje de ácido láctico es un parámetro de gran importancia a tener en cuenta en la calidad de la leche, dado que este es un metabolito producido por el crecimiento de las bacterias ácido lácticas, que transforman la lactosa en ácido láctico, acético, propiónico; ácidos grasos y acetona. Para Flores-Zelaya *et al.* (2010), los límites pueden oscilar dentro de un margen más amplio, igual que lo establecido en la Norma Técnica Colombiana NTC 399 para productos lácteos (leche) con acidez expresada como ácido láctico entre 0,13 y 0,18 % (ICONTEC, 2002), por lo que puede asociarse este resultado a una acidez aparente y no a una acidez desarrollada por el crecimiento o proliferación microbiana. Calderón *et al.* (2006) determinaron que la leche cruda producida en regiones de Colombia, como el Magdalena medio, muestran porcentajes de acidez que oscilan en un intervalo más amplio (0,110 - 0,350 % de ácido láctico). Estos autores, basados en criterios de calidad de otros entes, clasificaron como “excelente” a leches con crioscopía entre  $-0,545$  y  $-0,531$ .

En el Cuadro 1 también se aprecia que el contenido de grasa, sólidos no grasos y sólidos totales, estuvo dentro lo estipulado en el Reglamento Técnico, en el cual los valores mínimos que se deben cumplir son 3,00; 8,30 y 11,30 %, respectivamente (Diario Oficial, 2006). El contenido de células somáticas se ubicó por debajo del criterio del Reglamento del Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea de 400 CS/ $\mu$ L (PE/CUE, 2004) y por debajo de 345,133 CS/ $\mu$ L, valor encontrado por Calderón *et al.* (2012) en leches crudas procedentes de Montería (Córdoba). El conteo de células somáticas en una leche sin mastitis subclínica es bajo, pero en leches procedentes

**Cuadro 1.-** Parámetros medidos en la leche cruda empleada en la obtención del queso evaluado.

Parámetro	Media $\pm$ D. E.
Temperatura (°C)	25,67 $\pm$ 0,95
Materia grasa (%)	4,42 $\pm$ 0,22
Sólidos no grasos (%)	8,48 $\pm$ 0,02
Densidad (g/mL)	1,030 $\pm$ 0,02
Proteína (%)	3,04 $\pm$ 0,02
Lactosa (%)	4,43 $\pm$ 0,30
Agua adicionada (%)	0,00 $\pm$ 0,00
Temperatura de congelación (°C)	-0,54 $\pm$ 0,00
Sólidos totales (%)	12,713 $\pm$ 0,005
pH	6,51 $\pm$ 0,019
Acidez titulable ( % ácido láctico)	0,18 $\pm$ 0,005
Células somáticas (CS/ $\mu$ L)	284,33 $\pm$ 0,943

Los valores son promedios de 3 repeticiones. D. E.: desviación estándar. CS: células somáticas.

de cuadros con mastitis subclínicas o clínicas, su número se incrementa y su proporción cambia, de acuerdo a la severidad de la inflamación (Fernandes y de Oliveira, 2007).

El parámetro proteína no cumplió, el cual según la NTC 399 debe ser mínimo de 3,3 %. Múltiples factores como: composición de la dieta, clima, etapa de lactancia y genética, entre otros, de forma individual o conjunta, determinan el volumen y la concentración de componentes lácteos como la proteína (Calvache-García y Navas-Panadero, 2012), lo cual puede asumirse como explicación al bajo contenido de proteína de la leche empleada; más no se debe a una adulteración de esta, dado que los parámetros densidad y acidez estaban en los intervalos establecidos en el Reglamento Técnico colombiano y la NTC 399 (1,030 y 1,033 g/mL; 0,13 y 0,18 % ácido láctico).

Henno *et al.* (2008) sostienen que la temperatura de congelación, al igual que el porcentaje de acidez es un parámetro significativo en la determinación de calidad de la leche y es ampliamente utilizado para detectar la adulteración por agua en la misma. Sin embargo, no es del todo constante, está influenciado por factores relacionados con la variación en el medio ambiente, la raza, composición genética alterada que surge de los programas de cría, así como cambios en los métodos de producción. Por lo que variaciones presentadas pueden asociarse a los factores mencionados, y no a una adulteración.

En base a los criterios de calidad tabulados por Calderón *et al.* (2006), la leche empleada para la elaboración del queso fue “buena” dado que todos los valores se encontraron en el intervalo o por encima de la

clasificación; menos el contenido de lactosa que estuvo muy por debajo (5,3 - 4,9 %).

**Análisis químicos en los quesos**

La determinación de los parámetros químicos de los tratamientos almacenados a temperatura de 28 ± 2 °C solo se llevó a cabo hasta el día 5, debido al deterioro visible de los quesos. Para los quesos almacenados a 12 °C los parámetros de pH y acidez (% ácido láctico) se evaluaron cada 5 días por un periodo de 30 días y el contenido de materia grasa (%) y de humedad (%) se determinó para los días 0 y 30.

**Parámetros químicos de los quesos**

**almacenados a 28 ± 2 °C**

En el Cuadro 2 se puede ver que inicialmente los valores de pH y acidez, no presentaron variación entre los tratamientos (*p* > 0,05), y para el contenido de materia grasa y humedad aunque hubo variación, no fue estadísticamente significativa (*p* > 0,05) estando lo anterior relacionado con el contenido de cloruro de sodio. Así, inicialmente el T2 presentó mayor contenido de materia grasa y menor porcentaje de humedad. Al quinto día, hubo disminución del pH y la humedad e incremento de la acidez y el contenido graso en todos los tratamientos con respecto a los valores iniciales y de manera significativa (*p* < 0,05).

**Cuadro 2.-** Análisis químicos en los quesos los días 0 y 5 a temperatura 28 ± 2 °C.\*

Tratamiento	Días	pH	Acidez (% ácido láctico)	Contenido de materia grasa (%)	Contenido de humedad (%)
TC	0	5,64 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,59 ± 0,019 <sup>a</sup>	24,50 ± 0,10 <sup>a</sup>	42,93 ± 0,03 <sup>a</sup>
	5	4,95 ± 0,18 <sup>d</sup>	0,73 ± 0,016 <sup>d</sup>	25,83 ± 0,04 <sup>b</sup>	39,37 ± 0,04 <sup>c</sup>
T1	0	5,64 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,59 ± 0,016 <sup>a</sup>	24,50 ± 0,10 <sup>a</sup>	42,93 ± 0,03 <sup>a</sup>
	5	5,08 ± 0,02 <sup>c</sup>	0,64 ± 0,015 <sup>c</sup>	29,75 ± 0,02 <sup>c</sup>	39,48 ± 0,10 <sup>b</sup>
T2	0	5,64 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,59 ± 0,016 <sup>a</sup>	25,10 ± 0,17 <sup>a</sup>	41,93 ± 0,03 <sup>a</sup>
	5	5,20 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,62 ± 0,017 <sup>b</sup>	31,28 ± 0,02 <sup>d</sup>	38,48 ± 0,01 <sup>d</sup>

Los valores son promedios de 3 réplicas ± la desviación estándar.

\* Valores medios dentro de una misma columna sin ninguna letra en común presentan diferencias significativas a un nivel de significancia de 5 %.

TC: tratamiento control (queso Costeño al 2,5 % de cloruro de sodio, sin cubrimiento de película antimicrobiana).

T1: tratamiento uno (queso Costeño al 2,5 % de cloruro de sodio, cubierto con película antimicrobiana).

T2: tratamiento dos (queso Costeño al 3,0 % de cloruro de sodio, cubierto con película antimicrobiana).

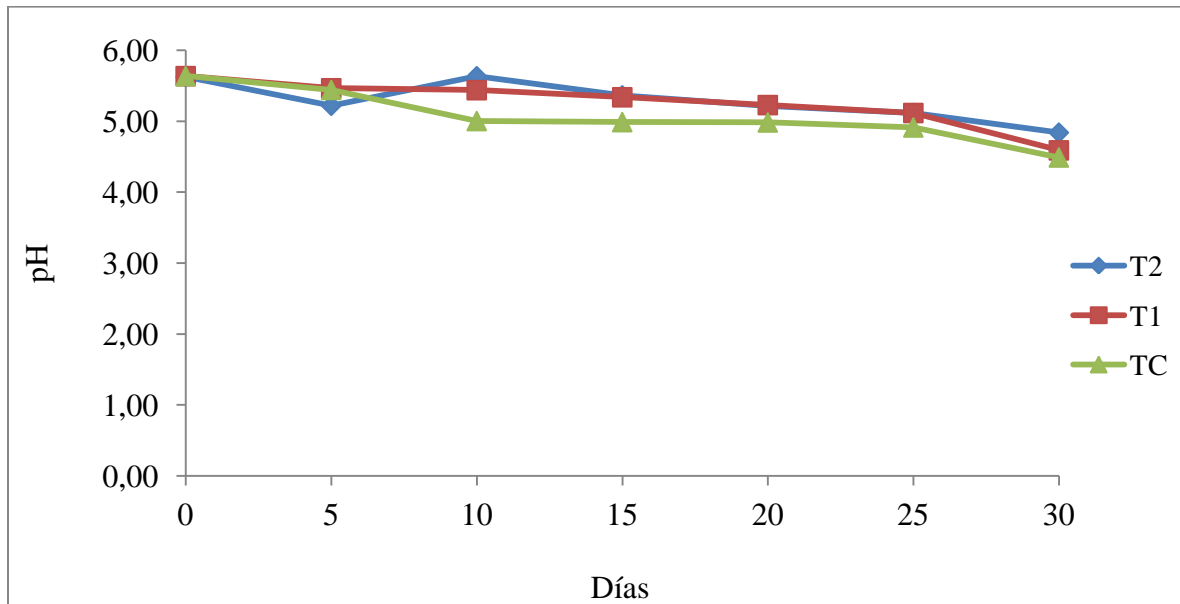
**Parámetros químicos de los quesos almacenados a 12 ± 1 °C**

**pH**

El comportamiento en el tiempo del pH de los quesos almacenados a 12 ± 1 °C se

muestra en la Fig. 3. No hubo diferencias significativas (*p* > 0,05) los días 5, 10, 15, 20, 25 y 30. Se aprecia de forma general que el pH descendió con el tiempo, lo cual puede ser explicado por el aumento de la concentración de ácido láctico, como resultado de la





Los valores son promedios de 3 réplicas.

TC: tratamiento control (queso costeño al 2,5 % de cloruro de sodio, sin cubrimiento de película antimicrobiana).

T1: tratamiento uno (queso costeño al 2,5 % de cloruro de sodio, cubierto con película antimicrobiana).

T2: tratamiento dos (queso costeño al 3,0 % de cloruro de sodio, cubierto con película antimicrobiana).

**Figura 3.-** Comportamiento del pH en los quesos almacenados a  $12 \pm 1$  °C.

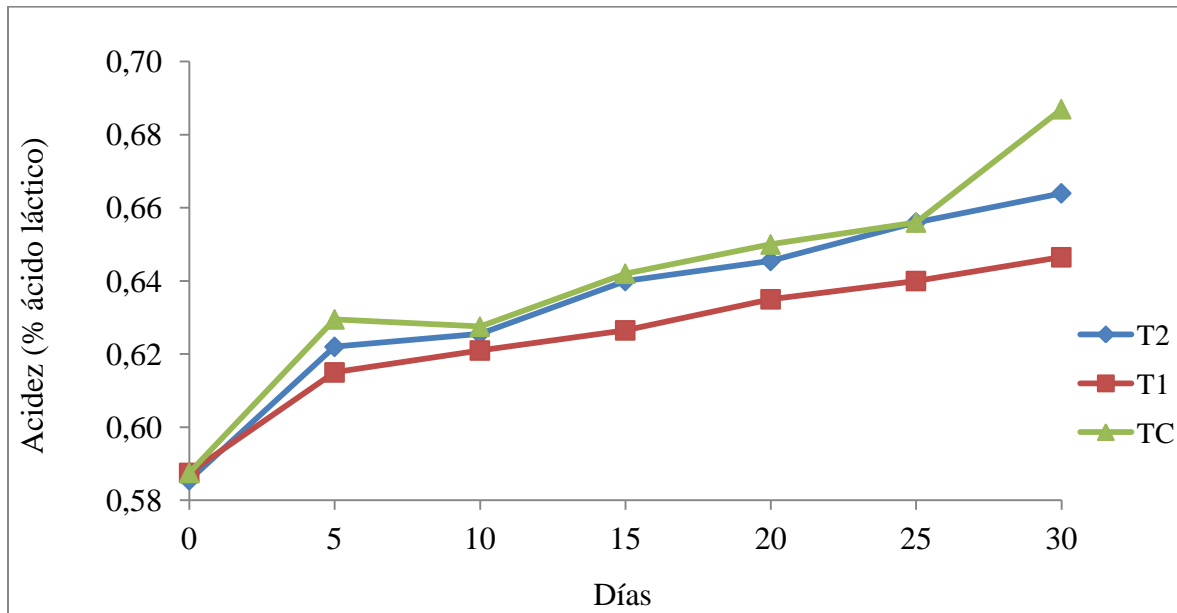
fermentación de lactosa por la acción de bacterias ácido lácticas (Lurueña-Martínez, 2010), y para el T2, el descenso fue menos pronunciado, como también ocurrió a temperatura  $28 \pm 2$  °C, en comparación con el TC (Cuadro 2).

En el día 0 se obtuvo un pH de 5,64 para los 3 tratamientos, y para el día 30 los valores medios de pH fueron TC 4,49; T1 4,59 y T2 4,84 (Fig. 1); estos se encuentran por fuera de lo especificado que establece que el valor para este parámetro debe estar comprendido en un intervalo de 5,0 a 5,2 (Novoa-Castro y Rodríguez-Calderón, 1994). Morales-Moreno *et al.* (2012) y López-Tenorio *et al.* (2012) obtuvieron, respectivamente, pH de 5,38 y 5,4 para queso Costeño. No obstante, Ballesta-Rodríguez (2014) mostró valores que oscilaron en un intervalo de 6,50 a 6,78. La nisina es, en general, más eficaz en pH ácidos y tiene una

actividad máxima a pH 5,5 (Sanjurjo *et al.*, 2006). Por otra parte, cambios de pH ocurridos en queso tratado y no tratado con nisina, han sido atribuidos al curso natural de la maduración (Pinto *et al.*, 2011).

### Acidez (% ácido láctico)

El comportamiento de la acidez (% ácido láctico) en el tiempo se presenta en la Fig. 4. Solo para los días 5 y 10 no existió diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ), lo contrario ocurrió los días 15, 20, 25 y 30, donde se detectaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) y mediante la prueba de comparación de medias de Duncan se determinó que los días 15, 20 y 25, el TC y el T2 conformaron un grupo homogéneo diferente del T1; y para el día 30 los 3 tratamientos fueron diferentes entre sí. El aumento de la



Los valores son promedios de 3 réplicas.

TC: tratamiento control (queso costeño al 2,5 % de cloruro de sodio, sin cubrimiento de película antimicrobiana).

T1: tratamiento uno (queso costeño al 2,5 % de cloruro de sodio, cubierto con película antimicrobiana).

T2: tratamiento dos (queso costeño al 3,0 % de cloruro de sodio, cubierto con película antimicrobiana).

**Figura 4.-** Comportamiento de la acidez titulable en los quesos almacenados a  $12 \pm 1$  °C.

acidez fue directamente proporcional al tiempo, mayor para el TC y menor para el T1.

La acidez titulable (% ácido láctico) para el día 0 fue de 0,59 % para todos los tratamientos, y para el día 30, TC 0,69; T1 0,65 y T2 0,66 %; estos valores exceden el requisito de ficha técnica del queso fresco tipo Costeño documentado por Burbano-Caicedo (2012). Valores de acidez en queso Costeño diferentes a los obtenidos han sido determinados por Ballesta-Rodríguez (2014) y Chávez-Acosta y Romero-Naranjo (2006) con intervalos de 0,08-0,23 y 0,37-1,15 %, respectivamente.

### Contenido de materia grasa (%)

El contenido de materia grasa en los quesos almacenados a  $12 \pm 1$  °C se presenta en el Cuadro 3. Inicialmente las determinaciones no mostraron diferencias estadísticamente

significativas ( $p > 0,05$ ) entre los tratamientos, en cambio, para el día 30 si existieron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) y al aplicar el test de comparación de medias de Duncan se obtuvo que los 3 tratamientos fueron diferentes.

Para la materia grasa (%) en el día 0 para el TC y el T1 (24,50 % para ambos) los resultados se encontraron dentro del intervalo establecido para este parámetro a diferencia del T2 (25,10 %) que superó el límite superior. El día 30, para TC, T1 y T2 (30,33; 34,99 y 40,27 %, respectivamente) los valores se ubicaron fuera del intervalo de 23 a 25 % (Novoa-Castro y Rodríguez-Calderón, 1994). El incremento en el contenido de grasa en las muestras a los 30 días se atribuye a la deshidratación de las mismas. Comparando los TC, T1, T2 se observa (Cuadro 3) que el contenido de materia grasa aumentó en mayor proporción en los 2 últimos tratamientos, los cuales fueron los que

**Cuadro 3.-** Contenido de materia grasa en los quesos almacenados a  $12 \pm 1$  °C.

Tratamiento	Día	Materia grasa (%)
TC	0	24,50 <sup>a</sup>
	30	30,33 <sup>b</sup>
T1	0	24,50 <sup>a</sup>
	30	34,99 <sup>c</sup>
T2	0	25,10 <sup>a</sup>
	30	40,27 <sup>d</sup>

Los valores son promedios de 3 réplicas.

Valores medios dentro de la misma columna sin ninguna letra en común presentan diferencias significativas a un nivel de significancia de 5 %.

TC: tratamiento control (queso costeño al 2,5 % de cloruro de sodio, sin cubrimiento de película antimicrobiana).

T1: tratamiento uno (queso costeño al 2,5 % de cloruro de sodio, cubierto con película antimicrobiana).

T2: tratamiento dos (queso costeño al 3,0 % de cloruro de sodio, cubierto con película antimicrobiana).

más se deshidrataron (Cuadro 4). Estos resultados coincidieron con los de autores como Chávez-Acosta y Romero-Naranjo (2006) quienes obtuvieron contenidos de materia grasa (%) para queso tipo Costeño fresco en intervalo de 19-26 %. No obstante, Morales-Moreno *et al.* (2012) y López-Tenorio *et al.* (2012) obtuvieron valores medios de 25,5 y 31,0 %, respectivamente, en este mismo tipo de queso.

Guinee y McSweeney (2006) han documentado estudios de contenido de materia grasa (%) en diferentes tipos de queso en los que se ha logrado establecer que la grasa constituye el componente mayoritario, con valores comprendidos entre 42 y 56 % para la mayoría de variedades y las diferencias en dicho contenido entre una variedad y otra, dependen de varios factores, como la composición de la leche (en particular de la relación proteína/grasa) y del proceso de elaboración del queso.

### Contenido de humedad (%)

El contenido de humedad en los quesos almacenados a  $12 \pm 1$  °C se presenta en el Cuadro 4. No hubo diferencia estadística significativa ( $p > 0,05$ ) para el tiempo 0, por el contrario, para el día 30, se encontró diferencia estadística significativa ( $p < 0,05$ ); el test de comparación de medias de Duncan indicó que todas las medias fueron diferentes.

En el día 0, el contenido de humedad para el T2 fue 41,89 %, y para el TC y T1 42,93 %. Para el día 30 se observó una acentuada disminución en los valores de todos los tratamientos. Ballesta-Rodríguez (2014) obtuvo valores promedios de contenido de humedad de 50,62 a 55,25 % en queso costeño salado en 1 % del peso de la cuajada obtenida. Lo anterior coincide con los resultados de Pinto *et al.* (2011), quienes encontraron disminución del contenido de humedad en queso desde 44,63 a 29,29 % transcurridos 30 días.

**Cuadro 4.-** Contenido de humedad en los quesos almacenados a  $12 \pm 1$  °C.

Tratamiento	Día	Humedad (%)
TC	0	42,93 <sup>a</sup>
	30	34,63 <sup>b</sup>
T1	0	42,93 <sup>a</sup>
	30	31,45 <sup>c</sup>
T2	0	41,89 <sup>a</sup>
	30	28,94 <sup>d</sup>

Los valores son promedios de 3 réplicas.

Valores medios dentro de la misma columna sin ninguna letra en común presentan diferencias significativas a un nivel de significancia de 5 %.

TC: tratamiento control (queso costeño al 2,5 % de cloruro de sodio, sin cubrimiento de película antimicrobiana).

T1: tratamiento uno (queso costeño al 2,5 % de cloruro de sodio, cubierto con película antimicrobiana).

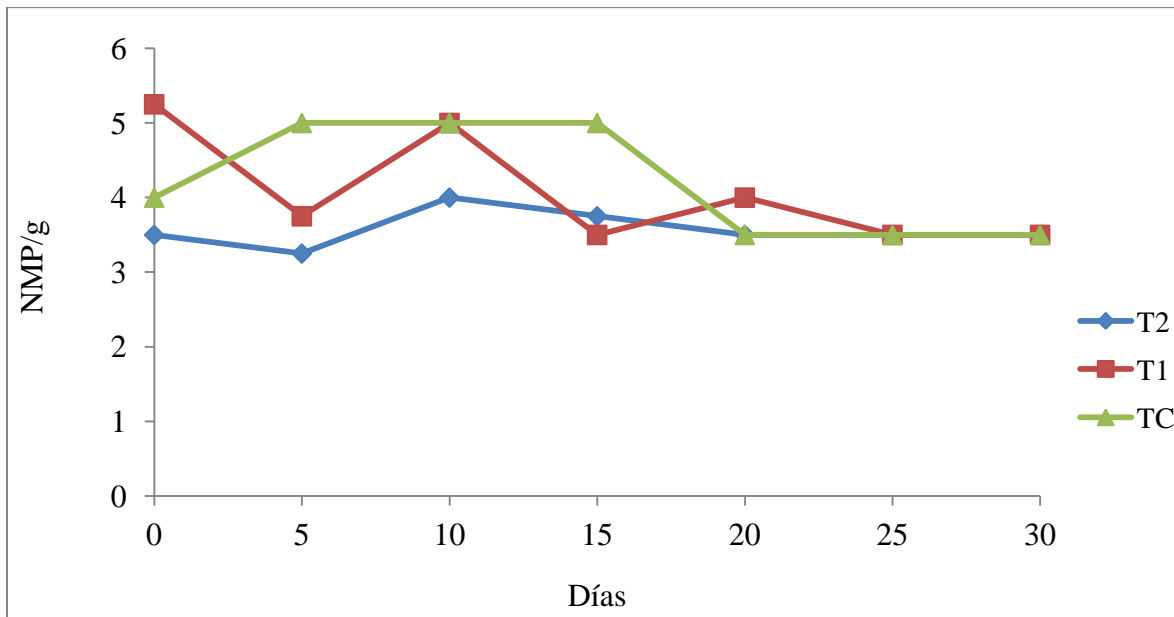
T2: tratamiento dos (queso costeño al 3,0 % de cloruro de sodio, cubierto con película antimicrobiana).

**Análisis microbiológicos en los quesos**

Los resultados de los análisis de coliformes totales y *Salmonella* spp. fueron >2400 y ausencia, respectivamente, en los quesos almacenados a temperatura  $12 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  y a temperatura  $28 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ; en el primer caso para todo el periodo de tiempo evaluado y en el segundo solo se realizaron análisis hasta el día 5, debido al deterioro de las muestras de quesos.

**Coliformes fecales en los quesos almacenados a  $12 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$**

De forma general, el recuento de coliformes fecales presentó una disminución a lo largo del tiempo, y hubo un incremento inesperado el día 10 en el T1 y T2 (Fig. 5). El espectro antimicrobiano de la nisina es considerado estrecho al no inhibir flora Gram negativa (Márquez y García-Rojas, 2007).



NMP: número más probable de microorganismos.

TC: tratamiento control (queso costeño al 2,5 % de cloruro de sodio, sin cubrimiento de película antimicrobiana).

T1: tratamiento uno (queso costeño al 2,5 % de cloruro de sodio, cubierto con película antimicrobiana).

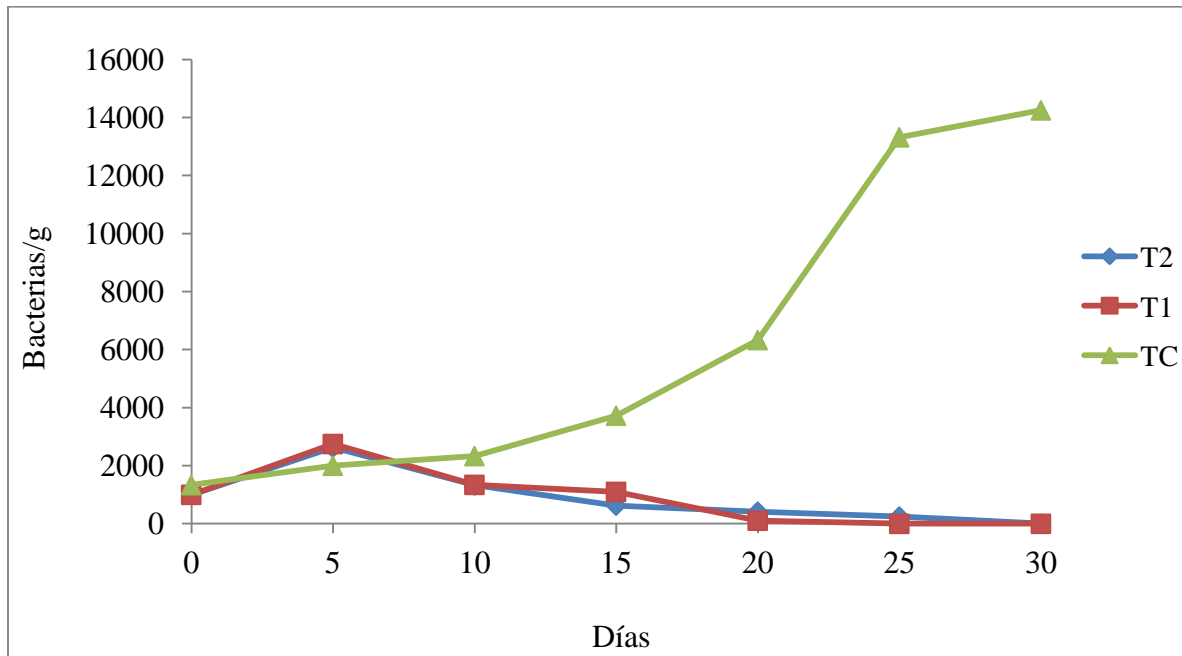
T2: tratamiento dos (queso costeño al 3,0 % de cloruro de sodio, cubierto con película antimicrobiana).

**Figura 5.-** Comportamiento de coliformes fecales en los quesos almacenados a  $12 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ .

***Staphylococcus aureus* coagulasa positiva en los quesos almacenados a  $12 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$**

Como se puede ver en la Fig. 6 la población de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva presentó una disminución en el tiempo

a partir del día 5 en el T1 y T2, que llegó a 0 el día 30. Caso contrario ocurrió en TC, donde las bacterias crecieron exponencialmente. Márquez y García-Rojas (2007) encontraron que la nisina ejerció un efecto inhibitorio sobre la población de *S. aureus* en queso blanco artesanal tipo “telita” al emplear 2 concentraciones (10,0 y



TC: tratamiento control (queso costeño al 2,5 % de cloruro de sodio, sin cubrimiento de película antimicrobiana).

T1: tratamiento uno (queso costeño al 2,5 % de cloruro de sodio, cubierto con película antimicrobiana).

T2: tratamiento dos (queso costeño al 3,0 % de cloruro de sodio, cubierto con película antimicrobiana).

**Figura 6.-** Comportamiento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva en los quesos almacenados a  $12 \pm 1$  °C.

16,7 mg de nisina/kg). Maldonado y Llanca (2007) hallaron en queso de mano que una concentración de 500 UI/g de nisina reducía y mantenía en 1,2 log UFC/g la población de *S. aureus* durante 7 días ( $10 \pm 2$  °C), mientras que en la muestra control la población microbiana aumentó y alcanzó 6,64 log UFC/g.

Pinto *et al.* (2011) estudiaron el efecto de diferentes concentraciones de nisina (0, 100 y 500 UI/mL) contra *S. aureus* en queso tradicional de la región Serro en Minas Gerais (Brasil), fabricados con leche cruda. También evaluaron la influencia de la nisina en las propiedades fisicoquímicas, las características mecánicas y el color de los quesos de más de 60 días de maduración. Encontraron que la nisina fue efectiva en la reducción de *S. aureus* manifestándose una reducción de 1,2 y 2,0 ciclos log, lo cual se observó al séptimo día de

la maduración de quesos que contenían 100 y 500 UI/mL de nisina, respectivamente, en comparación con la muestra control. Los principales cambios en las propiedades fisicoquímicas, características mecánicas y de color se asociaron con la maduración del queso.

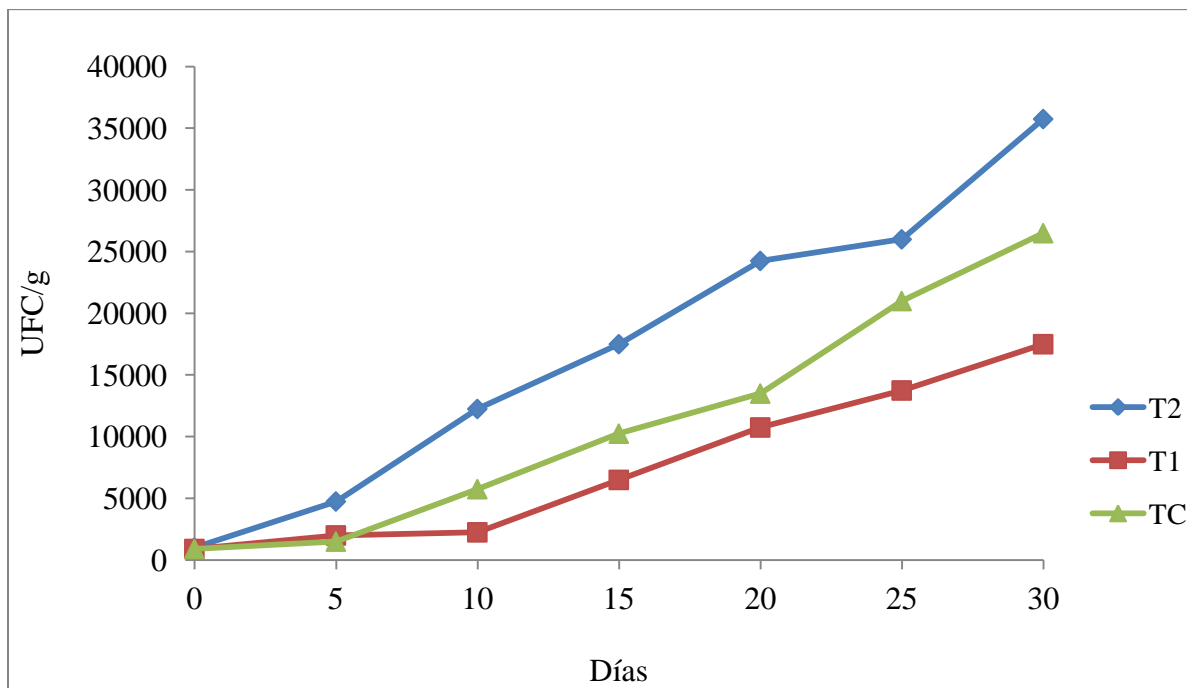
Por otra parte, la liberación gradual del agente antimicrobiano de la película comestible también puede ayudar a impedir la proliferación de microorganismos de mejor manera que la nisina añadida directamente, porque parece contrarrestar, al menos parcialmente, la inactivación de la misma (Sanjurjo *et al.*, 2006). Sin embargo, de acuerdo con Chung *et al.* (2001), la liberación lenta puede que no sea tan eficaz como la adición directa del antimicrobiano cuando la concentración inicial del microorganismo es bastante alta.

Núñez *et al.* (2004) describen que la

nisina es un biocompuesto que tienden a dañar solo a aquellos microorganismos similares a las bacterias que los producen. Los monómeros de la nisina se unen a la membrana citoplasmática a través de uniones electrostáticas con los fosfolípidos cargados negativamente, luego estos se insertan en la membrana con una reorientación que es dependiente del potencial de la membrana. Los monómeros se agregan dando como resultado la formación de un poro en la membrana, ubicándose hacia dentro de la región de fosfolípidos los restos hidrofílicos y hacia afuera los hidrofóbicos, ocasionando la salida de iones y la pérdida de fuerza protón motriz a la que le sigue la muerte celular. Esto explicaría la reducción de la población microbiana.

**Mohos y levaduras en los quesos almacenados a 12 ± 1 °C**

En la Fig. 7 se muestra el comportamiento de los recuentos de mohos y levaduras en el queso. Para el caso de mohos y levaduras se presentó un crecimiento exponencial en los 3 tratamientos, más pronunciado en el T2 y menor en el T1. La nisina muestra poca o ninguna actividad contra mohos y levaduras (Delves-Broughton, 1990; Pintado *et al.*, 2010). Ollé-Resa *et al.* (2014) utilizaron nisina en películas comestibles de almidón de yuca (tapioca) para queso y no observaron un efecto en el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*, no obstante, la combinación nisina-natamicina si controló el crecimiento de la levadura.



UFC: unidades formadoras de colonias.

TC: tratamiento control (queso costeño al 2,5 % de cloruro de sodio, sin cubrimiento de película antimicrobiana).

T1: tratamiento uno (queso costeño al 2,5 % de cloruro de sodio, cubierto con película antimicrobiana).

T2: tratamiento dos (queso costeño al 3,0 % de cloruro de sodio, cubierto con película antimicrobiana).

**Figura 7.-** Comportamiento de mohos y levaduras en los quesos almacenados a 12 ± 1 °C.

### Análisis microbiológico en los quesos almacenados a $28 \pm 2$ °C

En el Cuadro 5 se presenta el análisis microbiológico general para las muestras que fueron almacenadas a temperatura  $28 \pm 2$  °C por 5 días.

El NMP/g de coliformes fecales se mantuvo constante para el T1 y T2, a diferencia del TC, en donde se apreció una disminución.

Para el recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva fue notable un declive para el T1 y T2; mayor para este último. El aumento en la concentración de cloruro de sodio incrementa ligeramente la bioactividad de la nisina (Parente *et al.*, 1998; Chollet *et al.*, 2008).

Un comportamiento diferente mostró el TC el cual registró un aumento significativo con respecto al día 0. Mohammadi y Jodeiri (2014) en la evaluación del efecto de la nisina y la temperatura sobre *S. aureus* en quesos, encontraron, que a concentración de nisina de 1 µg/g, se produjo un efecto inhibitorio en el crecimiento y la producción de enterotoxina de la bacteria, y además, el efecto fue más pronunciado a 8 °C que a 25 °C.

Comparando la población de mohos y

levaduras para las muestras almacenadas a temperatura  $12 \pm 1$  °C el día 5 (Fig. 5) y  $28 \pm 2$  °C (Cuadro 5), se puede inferir que las poblaciones para esta última condición fueron mayores. La razón de altos recuentos de mohos y levaduras se debe a largo periodo de almacenamiento y/o al almacenamiento a alta temperatura del producto (Senbetu, 2014).

En líneas generales, como ha sido documentado en la literatura, la nisina, como otras bacteriocinas, posee actividad antimicrobiana contra un limitado espectro de microorganismos; inhibe la mayoría de las bacterias Gram positivas y sus esporas, pero muestra poca o ninguna actividad, no inhibiendo a la mayoría de las bacterias Gram negativas, mohos y levaduras (Delves-Broughton, 1990; Jozala *et al.*, 2011).

Cabe destacar, que la pérdida de bioactividad de la nisina ha sido planteada por Chollet *et al.* (2008) y Glass y Johnson (2004), quienes sugieren que la grasa puede reducir la actividad antimicrobiana de la nisina, dado que esta se absorbe en compuestos no polares. Por otra parte, Bhatti *et al.* (2004) encontraron que bajos contenidos de grasa se correlacionaron con alta actividad antimicrobiana de la misma.

**Cuadro 5.-** Análisis microbiológico en los quesos almacenados a  $28 \pm 2$  °C.

Tratamientos	Día	Coliformes totales (NMP/g)	Coliformes fecales (NMP/g)	<i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positiva (bacterias/g)	<i>Salmonella</i> spp. (en 25 g)	Mohos y levaduras (UFC/g)
TC	0	2400	4,00	1333,33	Ausencia	900
	5	2400	3,50	70000	Ausencia	5500
T1	0	2400	5,25	1000	Ausencia	900
	5	2400	5,25	833,33	Ausencia	10250
T2	0	2400	3,50	1000	Ausencia	1000
	5	2400	3,50	633,33	Ausencia	17250

NMP: número más probable de microorganismos. UFC: unidades formadoras de colonias.

TC: tratamiento control (queso costeño al 2,5 % de cloruro de sodio, sin cubrimiento de película antimicrobiana).

T1: tratamiento uno (queso costeño al 2,5 % de cloruro de sodio, cubierto con película antimicrobiana).

T2: tratamiento dos (queso costeño al 3,0 % de cloruro de sodio, cubierto con película antimicrobiana).

**Evaluación sensorial**

En el Cuadro 6 se presenta la significancia de los resultados del análisis de varianza de los datos obtenidos en las evaluaciones sensoriales de los quesos almacenados a  $12 \pm 1$  °C. La prueba de ordenación por atributos se llevó a cabo los días 5, 10 y 15, y la prueba de escala hedónica se realizó los días 0, 20, 25 y 30.

Para el día 0 se comparó el T1 con el T2; no hubo diferencias estadísticas significativas en la apariencia ( $p$ -valor = 0,2430), el sabor ( $p$ -valor = 0,2576) y la textura ( $p$ -valor = 0,7718) de los quesos. Para los

días 5 al 15 no hubo diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,05$ ) entre los 3 tratamientos para los 3 atributos evaluados.

Para los días 20 al 30, debido al crecimiento visible de mohos y levaduras en el TC, solo se evaluaron el T1 y el T2, los cuales no presentaron deterioro visible. El día 20 hubo diferencias significativas en el sabor ( $p$ -valor = 0,0034), mientras que para la apariencia ( $p$ -valor = 0,5576) y la textura ( $p$ -valor = 0,8960) no hubo. De manera similar, el día 25 hubo diferencias significativas en el sabor ( $p$ -valor = 0,0200) mientras que para la apariencia ( $p$ -valor = 0,8850) y la textura ( $p$ -valor = 0,8960) no hubo, y lo mismo ocurrió el día 30.

**Cuadro 6.-** Significancia estadística de los resultados de la evaluación sensorial de los quesos almacenados a  $12 \pm 1$  °C.

Atributo	Días																				
	0			5			10			15			20			25			30		
	TC	T1	T2	TC	T1	T2	TC	T1	T2	TC	T1	T2	TC	T1	T2	TC	T1	T2	TC	T1	T2
Apariencia	-	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	-	NS	NS	-	NS	NS	-	NS	NS
Sabor	-	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	-	*	*	-	*	*	-	*	*
Textura	-	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	-	NS	NS	-	NS	NS	-	NS	NS

\*: significativo. NS: no significativo.

TC: tratamiento control (queso costeño al 2,5 % de cloruro de sodio, sin cubrimiento de película antimicrobiana).

T1: tratamiento uno (queso costeño al 2,5 % de cloruro de sodio, cubierto con película antimicrobiana).

T2: tratamiento dos (queso costeño al 3,0 % de cloruro de sodio, cubierto con película antimicrobiana).

Chams-Chams (2013) menciona que en la costa colombiana el queso Costeño se prepara con concentraciones de 2 y 3 % de cloruro de sodio, y sin cloruro de sodio observó en una evaluación sensorial que un alto porcentaje de catadores rechazó al alimento y manifestaron que no les agradó el sabor. Con esta práctica, se detectaron diferencias estadísticas en el sabor los días 20, 25 y 30 en el T1 y T2 (Cuadro 6). No obstante, el sabor de los quesos, está influenciado por los

compuestos volátiles producto del metabolismo de proteínas, lípidos, lactosa residual, lactato y citrato, y en menor grado por compuestos que proceden de la leche de partida (Lurueña-Martínez, 2010).

Al pasar los días los quesos fueron más duros y pasaron de un color blanco cremoso a amarillento, con cierta cantidad de grasa, lo cual se debió a la pérdida de humedad desencadenada por el cloruro de sodio empleado, lo que fue percibido en la textura y



aparición de los quesos debido a que no se hallaron diferencias significativas en los diferentes tiempos evaluados para la textura, tampoco las hubo para la apariencia (Cuadro 6). Resultados parecidos han sido obtenidos por Estrella-Flores (2013), quien evaluó quesos sin ningún tipo de cubrimiento y almacenados a temperatura de refrigeración, los cuales presentaron cambios en el color y la textura. Lurueña-Martínez (2010) también observó cambios en el color y en la textura a través del tiempo en una variedad de queso, y mencionó la relación de los cambios en el color sobre todo con el extracto seco, la materia grasa, el contenido en aminoácidos y la estructura, mientras que los cambios en la textura principalmente con los fenómenos de proteólisis y a la pérdida de humedad. Para Ballesta-Rodríguez, (2014) la dureza de un queso está relacionada con la composición química, y la humedad es determinante, donde a menor contenido de agua quesos más duros y menos elásticos. Por otro lado, Chávez-Acosta y Romero-Naranjo (2006) han manifestado que el tipo de leche, la técnica de elaboración y el tiempo de maduración, influyen en el color de un queso.

## CONCLUSIONES

- Entre los quesos almacenados a  $12 \pm 1$  °C, no hubo diferencias estadísticas significativas en el comportamiento del pH, y para la acidez se encontraron diferencias los días 15, 20, 25 y 30.
- A mayor contenido de cloruro de sodio, se obtuvo mayor pérdida de humedad y aumento en el contenido de materia grasa, en el tiempo. Hubo diferencias estadísticas significativas los días 30 y 5 para los quesos almacenados a  $12 \pm 1$  °C y  $28 \pm 2$  °C, respectivamente.
- Independientemente del porcentaje de cloruro de sodio, la temperatura a  $12$  °C fue el factor más influyente en la

conservación del queso.

- Los tratamientos con películas y diferente concentración de cloruro de sodio (T1 y T2), durante los 30 días de estudio de los quesos almacenados a  $12 \pm 1$  °C, fueron aceptados sensorialmente por los panelistas, y hubo diferencia estadística significativa respecto al sabor los días 20 al 30. El tratamiento control (TC) presentó crecimiento visible de mohos y levaduras y no se evaluó los días 20 al 30.
- En los quesos almacenados a  $12 \pm 1$  °C, la película antimicrobiana con concentración de nisina de 16 mg/100 mL de solución, ejerció un efecto inhibitorio sobre la población de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva; la población disminuyó en el tiempo a partir del día 5 en el T1 y T2, y llegó a 0 el día 30. A temperatura  $28 \pm 2$  °C, el efecto fue mayor en el T2 el día 5.

## RECOMENDACIONES

- Desarrollar estudios similares con énfasis en diferentes temperaturas de refrigeración y con predicción de vida útil.
- Agregar un agente antimicótico a la película para inhibir el crecimiento de mohos y levaduras.
- Realizar estudios sobre películas antimicrobianas aplicadas a queso Costeño que permitan determinar la migración de la nisina desde la película hasta el interior del producto.
- Coordinar estudios con las autoridades competentes que permitan determinar el grado de contaminación del queso Costeño elaborado en el Departamento de Córdoba, con miras a tomar acciones que permitan la implementación de uso de cubrimientos, para garantía de un producto con mayor inocuidad.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de Córdoba (Colombia), especialmente a los programas de Ingeniería de Alimentos y Bacteriología, por brindarnos todas las herramientas necesarias para la realización de esta investigación, y a Margarita Rosa Arteaga Márquez por su valiosa orientación y colaboración.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. 1990. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. (15ta. ed.). Washington, USA.
- AOAC. 2005. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. (18va. ed.). Washington, USA.
- Ballesta-Rodríguez, Ingrid. 2014. Evaluación de la calidad del queso costeño elaborado con diferentes tipos de cuajo (animal y microbiano) y la adición o no de cultivos lácticos (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* y *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*). Tesis de Maestría. Departamento de Ingeniería Agrícola y de Alimentos, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.
- Bhatti, Meena; Veeramachaneni, Aparna and Shelef, Leora A. 2004. Factors affecting the antilisteria effects of nisin in milk. *International Journal of Food Microbiology*. 97(2):215-219.
- Burbano-Caicedo, Ilba. 2012. Caracterización de potencialidades para la instalación de una planta de queso fresco artesanal “tipo costeño colombiano” con proyección como producto vinculado al origen. Tesis de Maestría. Universidad para la Cooperación Internacional (UCI), San José, Costa Rica.
- Calderón, Alfonso; Arteaga, Margarita Rosa; Rodríguez, Virginia Consuelo; Arrieta, Germán Javier; Bermúdez, Diana Carolina y Villareal, Viviana Patricia. 2011. Efecto de la mastitis subclínica sobre el rendimiento en la fabricación del queso Costeño. *Biosalud*. 10(2):16-27.
- Calderón, Alfonso; García, Fredy y Martínez, Gloria. 2006. Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia. *Revista MVZ Córdoba*. 11(1):725-737.
- Calderón, Alfonso; Rodríguez, Virginia; Arrieta, Germán; Martínez, Nicolás y Vergara, Oscar. 2012. Calidad físico-química y microbiológica de leches crudas en empresas ganaderas del sistema doble propósito en Montería (Córdoba). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*. 15(2):399-407.
- Calderón-R., Alfonso; Rodríguez-R., Virginia y Vélez-R., Sandra. 2007. Evaluación de la calidad de leches en cuatro procesadoras de quesos en el Municipio de Montería, Colombia. *Revista MVZ Córdoba*. 12(1):912-920.
- Calvache-García, Iván y Navas-Panadero, Alexander. 2012. Factores que influyen en la composición nutricional de la leche. *Revista Ciencia Animal*. (5):73-85.
- Carrascal-Camacho, Ana Karina; Castaño-Sepúlveda, María Victoria; Cortes-Muñoz, Mónica Sofía; Correa-Lizarazo, Diana Ximena; Olivares-Tenorio, Mary Luz; Pérez-Hernández, Teresa y Suárez-Alfonso, Martha Cecilia. 2013. Evaluación de riesgos de *Listeria monocytogenes* en queso fresco en Colombia. En Documento de experiencias exitosas de como se ha aplicado el análisis de riesgos en Colombia. (pp. 23-25). Ministerio de Salud y Protección Social - Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Bogotá: Impresol Ediciones.
- Chams-Chams, Linda María. 2013. Efecto de películas antimicrobianas sobre la supervivencia de *Salmonella* spp. y *Staphylococcus aureus* en queso costeño

- elaborado con diferentes concentraciones de NaCl. Trabajo de Grado de Maestría. Departamento de Ingeniería de Alimentos, Facultad de Ingeniería, Universidad de Córdoba, Montería, Colombia.
- Chávez-Acosta, Alex Eduardo y Romero-Naranjo, Álvaro Alfredo. 2006. Diagnóstico de las condiciones microbiológicas y fisicoquímicas del queso costeño producido en el Municipio de Sincé-Sucre (Colombia). Trabajo de Grado. Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Facultad de Ingeniería, Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia. 115 p.
- Chollet, E.; Sebti, I.; Martial-Gros, A. and Degraeve, P. 2008. Nisin preliminary study as a potential preservative for sliced ripened cheese: NaCl, fat and enzymes influence on nisin concentration and its antimicrobial activity. *Food Control*. 19(10):982-989.
- Chung, Donghwan; Chikindas, Michael L. and Yan, Kit L. 2001. Inhibition of *Saccharomyces cerevisiae* by slow release of propyl paraben from a polymer coating. *Journal of Food Protection*. 64(9):1420-1424.
- Delves-Broughton, J. 1990. Nisin and its application as a food preservative. *Journal of the Society of Dairy Technology*. 43(3):73-76.
- Diario Oficial. 2006. Diario Oficial de Colombia. Número 46.196, Decreto 616 por el cual se expide el Reglamento Técnico sobre los requisitos que debe cumplir la leche para el consumo humano que se obtenga, procese, envase, transporte, comercialice, expendo, importe o exporte en el país. 28 Febrero. Bogotá, Colombia: Imprenta Nacional de Colombia.
- Estrella-Flores, Geovana Alexandra. 2013. Monitoreo de la calidad e inocuidad durante el almacenamiento de queso fresco elaborado artesanalmente en las parroquias rurales del cantón Riobamba. Tesis. Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- Fernandes, Andrezza Maria y de Oliveira, Carlos Augusto Fernandes. 2007. Atividade enzimática relacionada às células somáticas no leite. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. 62 (356):15-23.
- Flores-Zelaya, Juan Eduardo; Hernández-Araujo, Alexis y Velásquez-Santos, Romel Antonio. 2010. Evaluación de las características fisicoquímicas y microbiológicas de leche entera y pasteurizada comercializada en diferentes lugares de la ciudad de San Miguel. Tesis. Departamento de Ciencias Agronómicas, Facultad Multidisciplinaria Oriental, Universidad de El Salvador, San Miguel, El Salvador.
- Gallegos, Janneth; Arrieta, Germán; Máttar, Salim; Poutou, Raúl; Trespalacios, Alba y Carrascal, Ana. 2007. Frecuencia de *Listeria* spp., en quesos colombianos costeños. *Revista MVZ Córdoba*. 12(2):996-1012.
- García de Ruiz, Candy Dulcieri; Guzmán-Torres, E y Zaldívar-Quintero, N. 2013. Parámetros físico-químicos de leche cruda. *Revista de Producción Animal*. 25(1):4 p.
- Glass, Kathleen A. and Johnson, Eric A. 2004. Antagonistic effect of fat on the antibotulinal activity of food preservatives and fatty acids. *Food Microbiology*. 21(6):675-682.
- Guinee, T.P. and McSweeney, P.L.H. 2006. Significance of milk fat in cheese. In *Advanced Dairy Chemistry*. Volume 2. Lipids. (3th. ed.). (pp. 377-440). Nueva York, USA: Springer Science + Business Media, Inc.
- Henno, M.; Ots, M.; Jõudu, I. Kaart, T. and Kärt, O. 2008. Factors affecting the

- freezing point stability of milk from individual cows. *International Dairy Journal*. 18(2):210-215.
- Hernández-Alarcón, Elizabeth. 2005. Evaluación sensorial. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD).
- ICONTEC. 2002. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Productos lácteos. Leche cruda. Norma Técnica Colombiana NTC 399 (cuarta actualización).
- ICONTEC. 2009. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Productos lácteos. Queso. Norma Técnica Colombiana NTC 750 (cuarta actualización).
- ICMSF. 1984. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganismos de los alimentos. Técnicas de análisis microbiológico. Vol. 1. (2da. ed.). Zaragoza, España: Editorial Acribia, S. A.
- IDF. 1982. International Dairy Federation. Cheese and processed cheese. Determination of the total solids content (reference method). IDF standard 4A:1982.
- IDF. 1997. International Dairy Federation. Milk and milk products. Determination of fat content. General guidance on the use of butyrometric methods. IDF standard 152A:1997.
- INS. 2011. Instituto Nacional de Salud. Identificación de riesgos biológicos asociados al consumo de leche cruda bovina en Colombia. Bogotá: Imprenta Nacional de Colombia.
- Jozala, Angela Faustino; Silva, Daniel P.; Vicente, António A.; Teixeira, José A.; Pessoa-Júnior, Adalberto and Penna, Thereza C.V. 2011. Processing of byproducts to improve nisin production by *Lactococcus lactis*. *African Journal of Biotechnology*. 10(66):14920-14925.
- López-Tenorio, Julián Alfredo; Rodríguez-Sandoval, Eduardo y Sepúlveda-Valencia, José Uriel. 2012. Evaluación de las características físicas y texturales del pan de bono. *Acta Agronómica*. 61(3):273-281.
- Lurueña-Martínez, Miguel Ángel. 2010. Efecto de la raza y del recuento de células somáticas sobre la calidad del queso de oveja. Tesis Doctoral. Departamento de Construcción y Agronomía, Escuela Politécnica Superior de Zamora, Universidad de Salamanca, Zamora, España.
- Maldonado, Ronald y Llanca, Luis. 2007. Efecto de la incorporación de nisina sobre la supervivencia del *Staphylococcus aureus* en queso de mano. *Revista de la Facultad de Agronomía (UCV)*. 33(3):147-163.
- Márquez, José Gregorio y García-Rojas, Carmen Elena. 2007. Efecto de la nisina sobre la microflora patógena del queso blanco artesanal tipo "telita" elaborado en una quesera de Uputa, Estado Bolívar, Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 27(2):108-111.
- MinSalud. 1986. Ministerio de Salud. Resolución número 02310 de 1986. Por la cual se reglamenta parcialmente el Título V de la Ley 09 de 1979, en lo referente a procesamiento, composición, requisitos, transporte y comercialización de los derivados lácteos. Ministerio de Salud, República de Colombia.
- Mohammadi, Khosrow and Jodeiri, Hossein. 2014. Effects of nisin and temperature on behavior of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in model cheeses. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 20(3):461-464.
- Morales-Moreno, Margarita María; Rodríguez-Sandoval, Eduardo y Sepúlveda-Valencia, José Uriel. 2012. Evaluación de las propiedades físicas y texturales del

- buñuelo. Revista Lasallista de Investigación: 9(2):112-121.
- Novoa-Castro, Carlos Fernando y Rodríguez-Calderón, Álvaro. 1994. Guía para producir quesos colombianos. Bogotá, Colombia: Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA), Universidad Nacional de Colombia.
- Núñez, Griselda A.; Cayré, María, E.; Castro, Marcela P. y Garro, Oscar A. 2002. Efectividad y modo de acción de nisina sobre *Lactobacillus fructivorans*. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Ciencias Exactas. E-004. Universidad Nacional del Nordeste, Argentina. <http://www.unne.edu.ar/unneveja/Web/cyt/cyt/2002/08-Exactas/E-004.pdf>
- Ollé-Resa, Carolina P.; Gerschenson, Lía N. and Jagus, Rosa J. 2014. Natamycin and nisin supported on starch edible films for controlling mixed culture growth on model systems and Port Salut cheese. Food Control. 44:146-151.
- Parente, Eugenio; Giglio, Maria Annunziata; Ricciardi, Annamaria and Clementi, Francesca. 1998. The combined effect of nisin, leucocin F10, pH, NaCl and EDTA on the survival of *Listeria monocytogenes* in broth. International Journal of Food Microbiology. 40(1-2):65-75.
- PE/CUE. 2004. Parlamento Europeo/Consejo de la Unión Europea. Reglamento (CE) N° 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004 por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. Diario Oficial de la Unión Europea. 47(L 139):55-205.
- Pintado, Cristina M.B.S.; Ferreira, Maria A.S.S. and Sousa, Isabel. 2010. Control of pathogenic and spoilage microorganisms from cheese surface by whey protein films containing malic acid, nisin and natamycin. Food Control. 21(3):240-246.
- Pinto, Maximiliano Soares; de Carvalho, Antônio Fernandes; Pires, Ana Clarissa dos Santos; Souza, Ariana Aparecida Campos; da Silva, Paulo Henrique Fonseca; Sobral, Denise; de Paula, Junio César Jacinto and Santos, Adbeel de Lima. 2011. The effects of nisin on *Staphylococcus aureus* count and the physicochemical properties of Traditional Minas Serro cheese. International Dairy Journal. 21(2):90-96.
- Sanjurjo, Karen; Flores, Silvia; Gerschenson, Lía and Jagus, Rosa. 2006. Study of the performance of nisin supported in edible films. Food Research International. 39(6):749-754.
- Senbetu, Demeke Teklu. 2014. Hazard analysis of cheese provided for consumers in Hawassa/Ethiopia. Journal of Food Processing & Technology. 5(2):1000297.