

## Efecto de la adición de nisina en los parámetros físicos, químicos y sensoriales del queso "telita"

Elba Sangronis, Jesús García<sup>1</sup>

**Resumen.** 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,  $a_w$ , 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%,  $a_w$  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". **An Venez Nutr 2007;20 (1): 12-16.**

**Palabras clave:** Queso fresco, "telita", nisina, bacteriocina, aditivo.

## Effect of the addition of nisin on the physical, chemical and sensory parameters of "telita" cheese

**Abstract.** The use of nisin, a bacteriocin natural, is an alternative to decrease risks of cheese made with raw cow's milk, to increase the shelf life of the product and therefore improving its commercialization. In this study, the effect of two concentrations (16.7 and 10.0 mg/kg of cheese) of nisin on the physical and chemical characteristics and sensorial quality of "telita" cheese, made with 3 batches of fresh milk from different sources, was evaluated. "Telita" cheese without added nisin was used as control. Three lots of cheeses were prepared. Density, pH, acidity, proteins, fat, ash, phosphorous and calcium were determined on the raw milk. At the 24h, moisture, proteins, fat,  $a_w$ , pH and sensorial quality were determined in the "telita" cheese. Significant variations were observed for the different batches of milk used. The moisture of the cheese was 64%, protein 16%; fat 17%,  $a_w$  0.98 and pH 5.7. The sensorial quality of the cheese with nisin did not vary significantly respect to the control cheese. The results indicate that the addition of nisin in the concentrations assayed did not modify the composition and sensory quality of the "telita" cheese. **An Venez Nutr 2007;20 (1): 12-16.**

**Key words:** Fresh cheese, "telita", nisin, bacteriocin, additive.

### Introducción

La importancia del queso como alimento, en Venezuela y 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 fuente de proteínas, grasas, vitaminas y minerales, especialmente calcio, hierro y fósforo. Dentro de los tipos de quesos están los frescos, es decir no madurados, generalmente elaborados con leche cruda de vaca. Dentro de ese grupo esta el queso "telita", el cual es altamente consumido en el país.

Las características sensoriales y químicas del queso dependen de la calidad de la leche utilizada, el agregado

de cultivos microbianos proteolíticos y lipolíticos y el proceso de elaboración aplicado para obtener el queso (1). Los quesos pueden ser vehículo de microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp* y *Listeria monocytogenes* (2). La fuente más importante de contaminación de los quesos es la leche, que sumado a las deficientes condiciones higiénicas del proceso artesanal de fabricación del queso hacen al producto final riesgoso para el consumidor. Por estas razones es necesario 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 las bacteriocinas, entre ellas la nisina, cuyo uso en alimentos es permitido en más de 50 países en el mundo y recientemente fue aprobado en Venezuela para los quesos madurados (3).

El sector lácteo de la población de Uputa del Municipio Piar del Estado Bolívar manifestó una serie de problemas en cuanto a la manipulación, transporte y producción higiénica de la leche y en la producción de su principal

1. Departamento de Procesos Biológicos y Bioquímicos. Universidad Simón Bolívar.

**Solicitar copia a:** Elba Sangronis. Edificio QYP, Ofic. 121. Sartenejas, Baruta. Apartado Postal 89000. e-mail: esangron@usb.ve

**Financiamiento** de FONACIT: Red de Cooperación Productiva de Queso "telita", Nro. 20010001864.

producto lácteo, el queso "telita". Dicho sector solicitó la ayuda de los organismos oficiales de la región para el diagnóstico y la búsqueda de soluciones prácticas a fin de mejorar la producción y comercialización del queso "telita". Ello originó la creación de una red de profesionales de diversa formación ligados a instituciones oficiales y privadas dentro y fuera del Municipio. Surge, así, un grupo de trabajo denominado "red de asistencia técnica queso telita", financiado por Fonacit. Una vez realizado el diagnóstico de la problemática se propusieron soluciones prácticas dirigidas a mejorar la productividad de una quesera piloto y la calidad del producto final. Entre las sugerencias propuestas están, entre otras, la automatización y adaptación de la cuba de coagulación mixta para un mejor control de la temperatura en la leche para la formación de la cuajada y disminuir el tiempo de calentamiento de la leche (4) y la adición de nisina para prolongar la vida útil del queso. Por esta razón, el objetivo de este estudio fue determinar los efectos de la adición de nisina en las características físicas, químicas y sensoriales del queso telita de Uputa, del Estado Bolívar.

### Métodos

*Manufactura y muestreo del queso "telita":* El queso "telita" de manufactura artesanal se elaboró en la quesera "Virgen del Valle" en Uputa, Estado Bolívar, se empleó un sistema piloto semiautomático con una cuba de 1000 L de capacidad, desarrollado por CEDRA (5) y se siguió el procedimiento descrito en la Figura 1. La materia prima fue analizada antes de su utilización y se les identificó como partidas de leche I, II, y III. Una vez formada la cuajada se separó en 3 lotes de 6 kg c/u, los cuales se identificaron como A, B y C. A cada uno de estos lotes se agregó sal (4%-5%), a dos de ellos se agregó nisina (Nisin E234, Chrisin) como agente antimicrobiano, con una actividad comprobada. Al lote A de cada producción de quesos, se le agregó nisina a una concentración de 16,7mg/kg, para así obtener AI, AII, AIII (serie A), mientras que al lote B, se le agregó 10,0 mg/kg y se obtuvo BII, BII, BII (serie B). El lote C no se le agregó nisina y fue el control control, obteniéndose CI, CII, CII (serie C), según la partida de leche utilizada. Luego se procedió a la cocción de la pasta hasta alcanzar la textura de hilado (80-90°C), con posterior paleteo y moldeado final. De cada uno de los lotes, se tomaron muestras de quesos y se analizaron a las 24h de su elaboración.

*Análisis de la leche:* La densidad relativa de la leche se determinó según COVENIN 367- 82 (6), se utilizó un lactodensímetro calibrado a 15 °C. Para la determinación de humedad y el cálculo de sólidos totales (ST) se siguió COVENIN 932-82 (7). El contenido de grasa se determinó usando el método de Babcock según COVENIN 503-82

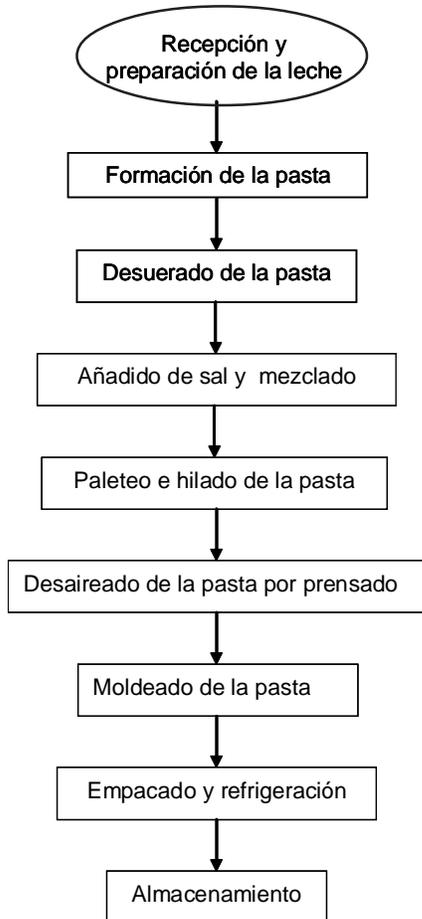
(8) y el de proteína se determinó por el método Kjeldhal, según COVENIN 370-97 (9), el contenido de nitrógeno se convirtió en proteína utilizando el factor 6,38. Para las cenizas se utilizó la norma COVENIN 368-82 (10). A partir de las cenizas humedecidas con 5 mL de ácido clorhídrico 1:1 y calentadas hasta sequedad, se determinó el contenido de fósforo y calcio. Para el fósforo se utilizó el método colorimétrico COVENIN 1178-83 (11), el cual se basa en medir la intensidad del color azul producido por un complejo de fósforo y molibdato, el cual es proporcional a la cantidad de fósforo presente. Para el calcio se utilizó absorción atómica con un equipo Pekín Elmer Modelo 460. Para la acidez total de la leche se utilizó el método indicado en COVENIN 658-97 (12), los resultados se expresaron como mL de NaOH 0,1N / 100 mL de leche.

Se determinó la presencia de antibióticos en la leche, para lo cual se empleó el método  $\beta$  star 25 de laboratorios UCB-Bioproducts, basado en el empleo de un receptor  $\beta$ -lactámico específico ligado a partículas de oro. En caso de que los antibióticos  $\beta$ -lactámicos estén presentes en la muestra de leche, éstos quedarían ligados al receptor durante la primera etapa de incubación. Durante la segunda etapa de incubación la leche se transfiere a un medio inmuno-cromatográfico que presenta dos bandas de retención. La primera banda de este medio retiene todos los receptores que no se han ligado a ningún antibiótico durante la primera incubación. La segunda banda del medio inmuno-cromatográfico sirve como banda de referencia. Para aplicar el método se tomaron 3 viales, se les agregó 0,2 mL de leche con una jeringa calibrada, se agitó suavemente hasta una disolución homogénea, se colocaron los viales en un baño de maría a 47,5 °C por 3 min, se introdujo una cinta que contiene el medio inmuno-cromatográfico y se interpretaron los resultados, por comparación con una tabla de referencia.

*Análisis del queso:* La humedad se determinó según COVENIN 1945-82 (14). Para la grasa se utilizó el método de Babcock según COVENIN 1814-81 (15). Las proteínas fueron determinadas por el método de Kjeldhal y el contenido de nitrógeno se convirtió en proteína utilizando el factor 6,38 COVENIN 370-97 (7). Como parámetros de estabilidad del queso se determinaron la actividad de agua (aw) y el pH. Para la determinación del aw se utilizó el Decagon CX-2 y el pH se determinó mediante un pHmetro marca Coleman Modelo 39, previamente calibrado, según la Norma COVENIN 1315-79 (13). Los análisis se hicieron por triplicado y se reportó media y desviación estándar.

*Evaluación sensorial:* Se entrenó un panel para detectar la calidad sensorial estándar del queso telita. Se

encuestaron 30 personas para seleccionar 13 de ellas, a las cuales se les pasaron pruebas de gustos básicos, umbral, reconocimiento de aroma y de ordenamiento de acuerdo a la concentración de atributos presentes en el queso (16,17) y finalmente se conformó un panel con 9 personas. Los panelistas seleccionados fueron entrenados para detectar variaciones en características sensoriales del queso telita y determinar si la adición de nisina afectaba la calidad sensorial. La planilla utilizada se presenta en la Figura 2. La comparación se hizo entre los quesos de cada serie y su respectivo control.



**Figura 1. Diagrama de fabricación del queso “telita”.**

*Análisis estadísticos:* Se reportaron medias y desviación estándar de triplicados. Los resultados de la leche de las 3 partidas se compararon mediante un ANOVA. La composición de los quesos de las series A, B y C de cada partida también se comparó usando ANOVA. Se fijó un  $p < 0,05$  y las medias se compararon según la prueba de intervalos múltiples de Duncan. Para el análisis sensorial se compararon los puntajes asignados a la serie A y B de cada partida por los panelistas. Se utilizó el programa estadístico Statgraphics® Plus para Windows, versión 5,1.

**Instrucciones:**

1. Se le darán dos muestras de queso “telita” cuya calidad requiere ser comparada con una muestra control, la cual está debidamente identificada.
2. Use la escala dada para hacer la comparación.
3. Asegúrese de enjuagarse la boca entre muestra y muestra.

**Escala**

Diferencia por inferioridad

**Puntaje**

Extrema 1  
Moderada 2  
Leve 3

Igual al control

No hay diferencia 4

Diferencia por superioridad

Leve 5  
Moderada 6  
Extrema 7

Muestra	Sabor

Observaciones: \_\_\_\_\_

Nombre: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

**Figura 2. Planilla para evaluar la calidad sensorial del queso “telita”.**

**Resultados**

En el Cuadro 1 se presentan los resultados de los análisis de las tres partidas de leche empleadas en la preparación de los lotes de queso de las series A, B y C, según se explicó anteriormente. No se observaron variaciones significativas en la densidad de las partida I y III de leche cruda, la densidad relativa de la leche de la partida II no se determinó (ND), ya que la muestra tomada para el análisis fue insuficiente. Se observaron diferencias en los valores de pH y acidez, siendo la leche de partida III, la del mayor valor. El contenido de grasa, proteína, cenizas y calcio también fue mayor para la partida III. No se detectó la presencia de antibióticos en la materia prima empleada. En el Cuadro 2 se presentan los resultados de la determinación de humedad, proteína, grasa, pH y  $a_w$  de los quesos elaborados con la misma partida de leche y dividida en las tres series antes señalada. Con fines comparativos, los resultados de proteína, grasa y cenizas se expresaron en base. No se observaron variaciones significativas entre los valores de pH final y  $a_w$  de quesos.

En el Cuadro 3 se presentan los resultados de los puntajes promedios sensoriales de los quesos, comparados con el control, los cuales indican que no se observaron diferencia significativas entre quesos elaborados con y sin nisina. De acuerdo a la escala propuesta, los resultados de todos los quesos “telita” evaluados dieron puntajes promedios que oscilaron entre 4 y 5, es decir entre “poca diferencia por inferioridad y “no diferencia” con el control.

**Cuadro 1. Análisis de leche empleada en la elaboración del queso "telita" .**

	Partida I		Partida II		Partida III	
	$\bar{X}$	DE	$\bar{X}$	DE	$\bar{X}$	DE
Densidad	1,040 ± 0,001 <sup>a</sup>		ND		1,040 ± 0,001 <sup>a</sup>	
pH	5,95 ± 0,05 <sup>a</sup>		5,85 ± 0,01 <sup>b</sup>		6,95 ± 0,01 <sup>c</sup>	
Acidez	3,4 ± 4,0 <sup>a</sup>		3,5 ± 3,0 <sup>b</sup>		33,0 ± 7,0 <sup>c</sup>	
Grasa (g/100g)	2,3 ± 0,2 <sup>a</sup>		2,6 ± 0,1 <sup>b</sup>		3,8 ± 0,1 <sup>c</sup>	
Proteína (g/100g) <sup>1</sup>	34 ± 4 <sup>a</sup>		35 ± 3 <sup>a</sup>		37 ± 7 <sup>c</sup>	
Cenizas (g/100g)	0,68 ± 0,01 <sup>a</sup>		0,67 ± 0,01 <sup>a</sup>		0,71 ± 0,02 <sup>c</sup>	
Calcio (mg/100g)	213 ± 10 <sup>a</sup>		212 ± 20 <sup>a</sup>		279 ± 13 <sup>c</sup>	
Fósforo (mg/100g)	108 ± 1 <sup>a</sup>		97 ± 10 <sup>a</sup>		100 ± 8 <sup>a</sup>	
Presencia de antibiótico	Negativo		Negativo		Negativo	

Se reportan media y desviaciones estándar de triplicados. <sup>1</sup>Valores expresados en base seca. Letras iguales en una misma fila indican no diferencias significativas (p < 0,05). ND: no se determinó por ser insuficiente la muestra.

**Cuadro 2. Análisis del queso "telita" con y sin adición de nisina.**

Muestra (Partida/Serie)	Humedad g/100 g	Proteína <sup>1</sup> g/100 g	Grasa <sup>1</sup> g/100 g	pH	a <sub>w</sub>
I/A	65,8 ± 1,8 <sup>a</sup>	49,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	49,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	5,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,974 ± 0,001 <sup>a</sup>
I/B	63,60 ± 0,2 <sup>b</sup>	53,0 ± 2,4 <sup>b</sup>	53,0 ± 2,4 <sup>b</sup>	5,6 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,975 ± 0,006 <sup>a</sup>
I/C	62,1 ± 0,2 <sup>c</sup>	40,0 ± 0,3 <sup>c</sup>	40,0 ± 0,3 <sup>c</sup>	5,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,973 ± 0,001 <sup>a</sup>
II/A	65,5 ± 2,9 <sup>a</sup>	39,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	39,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	5,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	0,975 ± 0,000 <sup>a</sup>
II/B	66,0 ± 0,4 <sup>a</sup>	51,9 ± 1,6 <sup>b</sup>	51,9 ± 1,6 <sup>b</sup>	5,8 ± 0,6 <sup>a</sup>	0,975 ± 0,000 <sup>a</sup>
II/C	61,6 ± 0,2 <sup>b</sup>	39,9 ± 0,4 <sup>a</sup>	39,9 ± 0,4 <sup>a</sup>	5,8 ± 0,6 <sup>a</sup>	0,971 ± 0,001 <sup>b</sup>
III/A	66,5 ± 0,5 <sup>a</sup>	41,8 ± 0,5 <sup>a</sup>	50,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	5,8 ± 0,3 <sup>a</sup>	0,975 ± 0,001 <sup>a</sup>
III/B	63,3 ± 0,3 <sup>b</sup>	51,0 ± 0,2 <sup>b</sup>	51,0 ± 0,2 <sup>b</sup>	5,7 ± 0,7 <sup>a</sup>	0,976 ± 0,006 <sup>a</sup>
III/C	61,4 ± 0,8 <sup>a</sup>	40,1 ± 0,1 <sup>c</sup>	40,1 ± 0,1 <sup>c</sup>	5,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,972 ± 0,003 <sup>a</sup>

Se reportan media y desviaciones estándar de triplicados. <sup>1</sup>Valores expresados en base seca. Letras iguales en una misma partida indican no diferencias significativas (p < 0,05).

**Cuadro 3. Resultados de la evaluación sensorial.**

Muestra	Puntaje ( $\bar{X} \pm DE$ )
Partida I Serie A	5,0 ± 2,7 <sup>a</sup>
Partida I Serie B	4,2 ± 1,0 <sup>a</sup>
Partida II Serie A	4,3 ± 2,0 <sup>b</sup>
Partida II Serie B	5,1 ± 1,8 <sup>b</sup>
Partida III Serie A	3,9 ± 1,2 <sup>b</sup>
Partida III Serie B	3,8 ± 1,0 <sup>b</sup>

Se compararon A y B por serie. Letras iguales en la misma partida indican no diferencias significativas (p < 0,05).

## Discusión

La partida de leche cruda identificada como III, por causas desconocidas, no se refrigeró antes de su uso, su temperatura al momento de incorporarla al proceso productivo fue de aproximadamente 30°C y no se sabe cuanto tiempo permaneció a esa temperatura. Ello quizás ocasionó que la muestra de leche de la partida III

presentara separación de fases, con dificultad para homogenizarla antes de la realización de los análisis, lo cual posiblemente explique sus diferencias estadísticamente significativas en composición, con respecto a las otras partidas de leche. Resaltan los valores de pH y acidez, lo cual puede reflejar deterioro. De acuerdo a la Norma COVENIN 903-93 (18) la densidad a 15°C debe estar entre 1,0280 y 1,0330. La densidad de la leche de la partida I y III son superiores a lo indicado por la norma, mientras que los valores de grasa son menores a la norma a excepción de la partida III que presentó problemas de homogenización. Todas las partidas de leche analizadas dieron reacción negativa a la presencia de antibióticos.

Con respecto a la composición de los quesos, las diferencias significativas en la humedad pueden atribuirse a variaciones en las fases de calentamiento, paletado e hilado. Pero dichas diferencias van a modificar la composición de los quesos expresados en base seca y eso justifica las diferencias significativas observadas en el contenido de proteínas y de grasa de los quesos. La no estandarización del proceso de coagulación de la proteína es una variable determinante en la composición del producto. Se sabe que variaciones de pH en la coagulación de la caseína en el orden de 0,1 puede afectar el rendimiento del proceso y la concentración de proteínas en el producto final (19). La humedad sin materia grasa (HSMG) del queso "telita" resultó ser 76%, estando en la denominación de queso con consistencia blanda (HSMG > 68), según lo indicado en la norma de calidad (3).

Los valores de pH de los quesos "telita" (aproximadamente 6) y los valores de a<sub>w</sub> (mayores a 0,9) indican que el producto es altamente susceptible al deterioro químico y microbiológico con posible crecimiento de microorganismos que representen un riesgo a la salud tales como *S. aureus* (20) y *Listeria monocytogenes* (21,22). Dichas condiciones justifican el uso de nisina como agente antimicrobiano, lo cual está permitido en más de 50 países (21) en diversos productos alimenticios, incluyendo quesos. La nisina inhibe las bacterias Gram positivas, incluyendo las patógenas, es atóxica, estable, se inactiva por las enzimas del tracto digestivo del humano. La presencia de nisina no afectó significativamente las propiedades sensoriales de los quesos "telita" elaborados en este estudio. Garde y col. (23) observaron un incremento en la intensidad de los componentes del aroma del queso fresco hispánico al añadir cultivos de bacterias productoras de nisina. Lo que demuestra que siempre que se añada alguna bacteriocina a los alimentos o microorganismos que la produzcan, es necesario revisar sus efectos en las características del producto comparados con aquellos sin la bacteriocina.

También se ha ensayado la adición de nisina en el queso de cabra, pero sin evaluar los efectos en las características sensoriales del producto (24). Este estudio preliminar indica que la adición de nisina en las concentraciones ensayadas no produjo cambios significativos en las características físicas, químicas y en la calidad sensorial del queso telita a las 24h de su elaboración. Estos resultados son el complemento de las pruebas microbiológicas en el queso "telita" que demuestran la efectividad de la nisina como bacteriocina.

### Referencias

1. Bodyfelt FW, Tobias J, Trout GM. Sensory Evaluation of Cheese. In: Sensory Evaluation of Dairy Products, AVI, New York. 1988. p 300-375.
2. Alais Ch. Principios de técnica lechera. En Ciencia de la Leche. Barcelona, España. Editorial Reverte, S.A. 1985.
3. COVENIN 1813-2000. Norma general de quesos. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Fondonorma. Caracas, Venezuela. 2000.
4. CEDRA El cluster del queso "telita". Centro Experimental de Recursos Autóctonos. Disponible en: <http://www.cedraweb.com>. Consultada en mayo 2005.
5. CEDRA. Manipulación higiénica de la leche y los productos lácteos. Centro Experimental de Recursos Autóctonos. 2000.
6. COVENIN 367-82. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Leche fluida. Determinación de densidad relativa. Fondonorma. Caracas, Venezuela. 1982.
7. COVENIN 932-82. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Leche y sus derivados. Determinación de sólidos totales. Fondonorma. Caracas, Venezuela. 1982.
8. COVENIN 503-82. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Leche fluida. Determinación de grasa. Método de Babcock. Fondonorma. Caracas, Venezuela. , 1982.
9. COVENIN 370-97. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Leche y sus derivados. Determinación de proteínas. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Fondonorma. Caracas, Venezuela. 1997.
10. COVENIN 368-82. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Leche fluida. Determinación de cenizas. Fondonorma. Caracas, Venezuela. 1982.
11. COVENIN 1178-83. Alimentos. Determinación de fósforo. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Fondonorma. Caracas, Venezuela. 1983.
12. COVENIN 658-86. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Leche y sus derivados. Determinación de acidez titulable. Fondonorma. Caracas, Venezuela. 1986.
13. COVENIN 1315-79. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Alimentos. Determinación de pH. Fondonorma. Caracas, Venezuela. 1979.
14. COVENIN 1945-82. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Leche y sus derivados. Determinación de humedad. Fondonorma. Caracas, Venezuela. 1982.
15. COVENIN 1814-81. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Quesos. Determinación de grasa. Fondonorma. Caracas, Venezuela. 1981.
16. Meilgaard M, Civille G.V, Carr BT. Sensory Evaluation Techniques. 3ed. Cap. 1,2. CRC Press. Boca Ratón. USA. 1999.
17. Wittig E. Evaluación sensorial una metodología actual para tecnología de alimentos. Talleres gráficos USACH. 1986. Chile.
18. COVENIN 903-93. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Leche cruda. Fondonorma. Caracas, Venezuela. 1993.
19. Varnam AH, Sutherland JP. Milk and milk products. Technology, Chemistry and Microbiology. Cap. 7. First Edition. Chapman & Hall. London. Great Britain. 1994. p 275-343.
20. Jablonsky LM, Bohach GA. Foodborne pathogenic bacteria: *Staphylococcus aureus*. En: Doyle M, Beuchat L, Montville T. Food microbiology. Fundamentals and frontiers ASM Press. Washington DC, USA; 1997.
21. Rodríguez JM. Espectro antimicrobiano, estructura, propiedades y modo de acción de la nisina, una bacteriocina producida por *Lactococcus lactis*. Food Sci Technol Int. 1996; 2: 61-68.
22. Farkas J, Polyák-Fehér, K., Andrassy E, Mészáros L. Improvement of microbiological safety of sous-vide meals by gamma radiation. Radiation Phys Chem. 2002; 63: 345-348
23. Garde S, Avila M, Medina M, Nuñez M. Influence of a bacteriocin-producing lactic cultura on the volatile compounds, odour and aroma of hispanic cheese. Intern Dairy J 2005; 1024-1043.
24. Capellas M, Mor-Mur M, Gervilla R, Yuste J Guamis B. Effect of high pressure combined with mildheat or nisin on inoculated bacteria and mesophiles of goat's milk fresh cheese. Food Microbiol 2000; 17: 633-641.