UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial

EFICACIA DE LA COMBINACIÓN DE NISINA Y ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO FRENTE AL *Staphylococcus aureus* EN LECHE Y EN LA CALIDAD FISICOQUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y SENSORIAL DEL QUESO FRESCO

TESIS

PRESENTADA POR:

JOHN VÍCTOR CAMA CURASI

Para optar el Título Profesional de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

MOQUEGUA – PERÚ

2021

UNAM
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

Folio N° .....

ACTA DE SUSTENTACIÓN

I. Modalidad:

Tesis : [X]

Trabajo de Suficiencia Profesional : [ ]

II. Documento de aprobación de la modalidad de titulación del bachiller:

Resolución de Comisión Organizadora N°244-2021-UNAM

Fecha: 06 de junio de 2017

III. Documento de aprobación para la sustentación:

Resolución de Facultad N°0084-2021-FACIA-UNAM

Fecha: 22 de noviembre de 2021

IV. El Jurado ha dictaminado la (el) Proyecto de tesis,

TITULADO: **"EFICACIA DE LA COMBINACIÓN DE NISINA Y ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO FRENTE AL *Staphylococcus aureus* EN LECHE Y EN LA CALIDAD FISICOQUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y SENSORIAL DEL QUESO FRESCO".**

Bachiller: John Victor Cama Curasi

Asesor Principal: Dr. Jhony Mayta Hancco

V. Se dictamina:

Como: **APROBADO** por **unanimidad** la sustentación de manera:

Presencial [ ] [X] Virtual

Con nota: QUINCE (15) por lo que; Sí [X] No [ ]

Opta el Título Profesional de **INGENIERO AGROINDUSTRIAL.**

Siendo las 10 horas, del 24 de noviembre del año 2021 se procede con la firma en conformidad de lo dictaminado por el Jurado.

UNAM FIRMA DIGITAL — Firmado digitalmente por CCALLI PACCO Honorato FAU 20449347448 soft Fecha: 2021.12.10 08:59:47 -05'00'

Presidente
Dr. Honorato Ccalli Pacco

UNAM FIRMA DIGITAL — Firmado digitalmente por ESCOBEDO PACHECO Elias FAU 20449347448 soft Fecha: 2021.12.08 00:02:24 -05'00'

Primer Miembro
Dr. Elías Escobedo Pacheco

UNAM FIRMA DIGITAL — Firmado digitalmente por SALDAÑA VILLA Erick Manuel FAU 20449347448 soft Fecha: 2021.12.07 10:48:29 -05'00'

Segundo Miembro
Dr. Erick Manuel Saldaña Villa

UNAM FIRMA DIGITAL — Firmado digitalmente por MAYTA HANCCO Jhony FAU 20449347448 soft Fecha: 2021.12.07 15:57:00 -05'00'

Asesor Principal
Dr. Jhony Mayta Hancco

Miembro Accesitario
M.Sc. Carmen Gisela Mindani Caceres

Bachiller
Bach. John Victor Cama Curasi

A mis abuelos que no pudieron ver este momento.

A mi familia y amigos que me brindaron su apoyo.

RESUMEN

La leche y el queso fresco son excelentes medios de crecimiento para muchos microorganismos, que frecuentemente son asociados con enfermedades transmitidas por los alimentos. El objetivo de esta tesis fue evaluar la eficacia de la nisina y el aceite esencial de orégano (AEO) en el recuento de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) en leche y en la calidad fisicoquímica, microbiológica y sensorial del queso fresco. La leche pasteurizada (74 °C, 15 s) y enfriada se inoculó con ~ 5.0 log ufc/mL de *S. aureus* y se añadió nisina a concentraciones de 0, 250 y 500 Unidades Internacionales (UI) por mililitro; AEO a 0, 0.0025 y 0.005%. El análisis microbiológico se realizó por el método de recuento en placa 3M™ Petrifilm™ Staph-Express. Se fabricaron 3 tipos de queso a partir de leche pasteurizada con adición de nisina (500 UI/mL), nisina:AEO (500 UI/mL:0.0025%) y un control (sin adición de nisina ni AEO) y se analizaron al día 1, 4 y 8 de almacenamiento a 4 °C. Los resultados mostraron que la adición de 500 UI/mL de nisina reduce el crecimiento de *S. aureus* en leche (~ 1.6 log ufc/mL) en comparación a la leche sin adición de nisina ni AEO; y aerobios mesófilos en queso fresco (~ 1 log ufc/mL) en comparación al queso control. Los quesos con adición de nisina y nisina:AEO, cumplieron con las especificaciones de calidad sanitaria e inocuidad vigente hasta el día 4 de almacenamiento, y la aceptación sensorial fue similar a la del queso control. En cambio, el AEO no tuvo un efecto significativo en la reducción de *S. aureus* en leche, y en los quesos frescos les confiere un aroma intenso que no fue bien puntuado por los consumidores. La nisina es un potente antimicrobiano que contribuye a la seguridad de la leche y el queso.

***Palabras clave*:** leche; queso fresco; nisina; aceite esencial de orégano; *S. aureus*.

ABSTRACT

Milk and fresh cheese are excellent growth media for many microorganisms, which are often associated with foodborne diseases. The aim of this thesis was to evaluate the efficacy of nisin and oregano essential oil (OEO) in the counting of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) in milk and in the physicochemical, microbiological and sensory quality of fresh cheese. The pasteurised (74 °C, 15 s) and cooled milk was inoculated with ~ 5.0 log cfu/mL of *S. aureus* and nisin was added at concentrations of 0, 250 and 500 International Units (IU) per milliliter; OEO at 0, 0.0025 and 0.005%. Microbiological analysis was performed using the 3M™ Staph-Express Trifilm™ Plate Count method. Three types of cheese were manufactured from pasteurized milk with the addition of nisin (500 IU/mL), nisin:OEO (500 IU/mL:0.0025%) and a control (without the addition of nisin or OEO) and were analysed at day 1, 4 and 8 storage at 4 °C. The results showed that the addition of 500 IU/mL of nisin reduces the growth of *S. aureus* in milk (~1.6 log cfu/mL) compared to milk without addition of nisin or OEO; and mesophilic aerobic in fresh cheese (~1 log cfu/mL) compared to control cheese. The cheeses with the addition of nisin and nisin:OEO, met the health quality and safety specifications in force until day 4 of storage, and the sensory acceptance was similar to that of the control cheese. In contrast, OEO did not have a significant effect on the reduction of *S. aureus* in milk, and in fresh cheeses it gives them an intense aroma that was not well rated by consumers. Nisin is a potent antimicrobial that contributes to the safety of milk and cheese.

***Keywords*:** milk; fresh cheese; nisin; oregano essential oil; *S. aureus*.

ÍNDICE

RESUMEN iii
ABSTRACT iv
ÍNDICE DE TABLAS vii
ÍNDICE DE FIGURAS viii
GALERÍA DE FOTOS viii
Capítulo 1. INTRODUCCIÓN 1
1.1. Descripción y formulación del problema 2
1.2. Antecedentes 3
1.3. Objetivos 4
1.4. Justificación e importancia 4
1.5. Hipótesis 5
1.6. Variables 5
1.6.1. Objetivo 1 5
1.6.2. Objetivo 2 6
Capítulo 2. MARCO TEÓRICO 7
2.1. El queso fresco 7
2.1.1. Términos y definición 7
2.1.2. Producción y consumo 8
2.1.3. Etapas de la fabricación de quesos 8
2.1.4. Composición de los quesos frescos 9
2.2. Características microbiológicas 13
2.2.1. En leche 13
2.2.2. En queso 15
2.3. Especificaciones sanitarias de leche y queso fresco 17
2.4. Uso de bacteriocinas en la elaboración de quesos frescos 18
2.4.1. Nisina 18
2.5. Uso de aceites esenciales en la elaboración de quesos 19
Capítulo 3. METODOLOGÍA 20

3.1. Tipo y nivel de investigación 20
3.2. Ámbito temporal y espacial 20
3.3. Población y muestra 20
3.4. Procedimientos 21
3.4.1. Obtención de la leche y pasteurización 21
3.4.2. Preparación de nisina y aceite esencial de orégano 21
3.4.3. Activación e inoculación de *S. aureus* 21
3.4.4. Determinación de *S. aureus* 22
3.4.5. Producción de queso fresco 22
3.4.6. Análisis fisicoquímico de quesos 23
3.4.7. Análisis microbiológico de quesos 25
3.4.8. Análisis sensorial de quesos 25
3.5. Análisis Estadístico 26
Capítulo 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 27
4.1. Recuento microbiológico de *S. aureus* en leche 27
4.2. Análisis fisicoquímico de quesos 28
4.3. Recuento microbiológico de quesos 30
4.4. Análisis sensorial 31
CONCLUSIONES 34
BIBLIOGRAFÍA 35
ANEXOS 41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1. Composición de algunos quesos frescos, por 100g (O'Callaghan *et al*., 2017)..... 11

Tabla 2.2. Contenido promedio de minerales (mg por 100 g) (Renner, 1993) 12

Tabla 2.3. Contenido promedio de vitaminas (por 100 g) (Renner, 1993) 12

Tabla 2.4. Grupos de microorganismos encontrados en la leche (Hassan y Frank, 2011)..... 14

Tabla 2.5. Microorganismos en leche cruda y pasteurizada (Fernandes, 2009) 14

Tabla 2.6. Microorganismos en algunos quesos frescos comercializados 16

Tabla 2.7. Criterios microbiológicos de calidad e inocuidad de la leche cruda, pasteurizada y queso fresco (MINAGRI, 2017) 17

Tabla 2.8. Actividad antibacteriana del aceite esencial de orégano (Albado *et al*., 2001) 19

Tabla 3.1. Tratamientos y factores de diseño..... 25

Tabla 4.1. Recuento microbiológico de *S. aureus* en leche pasteurizada a diferentes dosis de nisina y AEO después de 24 h de incubación a 37 °C. 28

Tabla 4.2. Análisis fisicoquímico de quesos frescos a 1, 4 y 8 días de almacenamiento a 4 °C. 28

Tabla 4.3. Recuento microbiano (log ufc/g) de quesos frescos a 1, 4 y 8 días de almacenamiento a 4 °C. 30

Tabla 4.4. Análisis sensorial de quesos frescos después de 2 días de almacenamiento a 4 °C. 32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. Producción de queso fresco a nivel nacional en porcentajes (MIDAGRI, 2021)... 8

Figura 2.2. Transferencia de componentes de la leche al queso adaptado de Walstra *et al*. (2006)..... 11

Figura 3.1 Flujograma experimental en leche y queso fresco..... 24

Figura 4.1. Aceptación por tipo de quesos..... 33

GALERÍA DE FOTOS

Foto 1. Vista panorámica de Petrifilms con colonias de *S aureus* de muestras de leche..... 44

Foto 2. Colonias de *S. aureus* en leche sin adición de nisina ni AEO (A) y con adición de 500 UI/mL de nisina (B). 44

Foto 3. Colonias de aerobios mesófilos de muestras de queso fresco 45

Foto 4. Colonias de enterobacterias de muestras de queso fresco 45

Foto 5. Colonias de de esporas de muestras de queso fresco..... 46

Foto 6. Consumidores evaluando la calidad sensorial de quesos frescos 46

Capítulo 1. INTRODUCCIÓN

El queso fresco es un producto de consumo generalizado, siendo en la Unión Europea (Francia) el segundo derivado lácteo de mayor consumo después de la crema, tal y como, lo presenta el estudio de tendencias de consumo de productos lácteos en la Unión Europea (Bouamra-Mechemache *et al*., 2008). Este queso se caracteriza por ser de pasta blanda, de color blanco, y presenta un 41-59% de humedad, 5.3-6.5 de pH, 18-29% de grasa, 17-21% de proteína y de 1-3% de sal (Hnosko *et al*., 2009). El queso fresco tiene una vida útil limitada de 3-7 días, debido a su pH y humedad relativamente altos (Zamora *et al*., 2012) que son aprovechados por los microorganismos para su crecimiento y supervivencia (Fox *et al*., 2015) convirtiendo al queso en un producto de alto riesgo para consumo humano.

La leche recién ordeñada en condiciones de asepsia puede contener microorganismos entre $5x10^3$ y $5x10^4$ unidades formadoras de colonias (ufc) por mililitro, éstos pueden ser: *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* verotoxigénico, *Yersinia enterocolitica, Listeria monocytogenes*, y *S. aureus* (Lebrero *et al*., 2015). En general, para eliminar y/o reducir la carga microbiana, la leche es sometida a tratamientos de pasteurización. Sin embargo, las esporas y los mesófilos resistentes al calor no son destruidas (Fernandes, 2009). Uno de los microorganismos patógenos presente en leche y quesos es el *S. aureus*, que produce enterotoxinas resistentes a la pasteurización y esterilización (Food Safety Authority of Ireland, 2011). La leche se contamina con *S. aureus* por varios mecanismos, tales como; leche sin tratamiento, ambientes de proceso y manipuladores de alimentos (da Silva *et al*., 2020).

En la actualidad se utilizan conservantes naturales como las bacteriocinas, que son péptidos antimicrobianos originados por distintas bacterias (Monroy *et al*., 2009). La nisina demostró ser efectiva en el control de *S. aureus* en leche (Felicio *et al*., 2015; Shi *et al*., 2017), queso fresco de Minas Gerais (Felicio *et al*., 2015) y queso Minas Serro (Arqués *et al*., 2004).

El AEO posee actividad antimicrobiana por su contenido de timol y carvacrol (Rodriguez-Garcia *et al*., 2016). La utilización del AEO en la reducción de microorganismos en leche y quesos ha sido ampliamente estudiada, por ejemplo; De Souza *et al*. (2016) observaron reducciones de 1.5 log ufc/mL en *S. aureus* cuando utilizaron 0.125% de AEO en queso brasilero, después de 24 h, luego Albado *et al*. (2001), demostraron que el AEO posee actividad antimicrobiana frente a bacterias grampositivas (*S. aureus* y *B. cereus*) y sobre bacterias gramnegativas, utilizando placas de cultivo con halos de inhibición, en 24 h. La adición de AEO al queso cottage disminuye el deterioro durante el almacenamiento prolongando su vida útil (Asensio *et al*., 2015). Por otro lado, Govaris *et al*. (2010) utilizaron la combinación de nisina y AEO a concentraciones de 500 UI/g y 0.6%, respectivamente, mostrando mayor actividad antimicrobiana frente a *S*. Enteriditis, con una disminución de 1.8 log ufc/g, en carne picada de oveja.

Sin embargo; no se han realizado pruebas de evaluación sensorial en quesos frescos con adición de AEO, tampoco se han determinado sus características fisicoquímicas. Por lo tanto, se utilizó concentraciones menores de AEO y nisina, en leche y queso, para lo cual se realizó pruebas de evaluación sensorial, microbiológica y fisicoquímica.

1.1. Descripción y formulación del problema

En el Perú el queso fresco, es un producto lácteo de consumo generalizado, cuya producción nacional en el año 2020, según el MIDAGRI (2021) fue de 6550 toneladas, su elaboración es artesanal e industrial, por lo que se elabora en las localidades para luego ser comercializado en mercados. Sin embargo, la población desconoce la calidad bacteriológica del mismo, representando un riesgo para la salud (Vásquez *et al*., 2018). En una investigación, Cristóbal & Maurtua (2003) encontraron altas cargas de coliformes fecales, *E. coli*, aerobios mesófilos y *S. aureus* en queso fresco artesanal, que representan un probable riesgo para el consumidor.

A partir de lo expuesto: ¿Cuál será la eficacia de la adición de nisina y AEO, en el recuento de *S. aureus* en leche y en la calidad fisicoquímica, microbiológica y sensorial del queso fresco?

1.2. Antecedentes

Estudios realizados por Cristóbal & Maurtua (2003) y Aguirre (2015) sobre la calidad microbiológica del queso fresco comercializado en Lima y Trujillo, respectivamente, encontraron que, los recuentos de las muestras analizadas sobrepasan los límites máximos permitidos de la normatividad vigente, para microorganismos como: bacterias aerobias mesófilas, coliformes totales, *E. coli*, *S. aureus*, *Enterococcus faecalis* y *Lactobacillus spp*., esto significa que, existen deficiencias higiénicas en la manipulación del queso fresco artesanal, lo que representa un riesgo para la salud.

Felicio *et al*. (2015), evaluaron los efectos de la nisina sobre recuentos de *S. aureus* en leche y queso fresco, encontrando que, 400 y 500 UI/mL de nisina adicionados en leche inoculada con 5.0 log ufc/mL de *S. aureus*, redujeron en 1,3 ciclos logarítmicos los recuentos de la bacteria, asimismo, estas concentraciones de nisina al ser utilizadas en la leche de quesería inoculada con *S. aureus*, para la elaboración de quesos frescos, redujeron en 1,5 ciclos logarítmicos los recuentos de *S. aureus*. En otra investigación, Soares *et al*. (2011), encontraron reducciones en 1 y 2 ciclos logarítmicos en los recuentos de *S. aureus*, durante la elaboración del queso tradicional Minas Serro, cuando se utilizó concentraciones de 100 y 500 UI/mL de nisina, respectivamente. Concluyeron que, la eficacia de la bacteriocina depende de la contaminación inicial de la leche y de las prácticas de manipulación del queso, sin embargo, con la adición de nisina a la leche cruda con bajos recuentos de *S. aureus* se logra un queso Serro más seguro. Arqués *et al*. (2004) encontraron recuentos de 4.67 y 4.60 log ufc/mL en leche con nisina para *L. monocytogenes* y *S. aureus*, respectivamente, más bajos que la muestra control.

De Souza *et al*. (2016), demostraron que el AEO inhibe el crecimiento de *S. aureus* y *Listeria monocytogenes,* al reducir hasta 2.0 y 2.5 log ufc/mL, respectivamente, debido a la adición de AEO a 0.125 y 0.25%, en caldo de queso semiduro. Asimismo, Albado *et al*. (2001), confirmaron que el AEO posee actividad antimicrobiana frente a bacterias gram positivas como *S. aureus* y *B. cereus* y sobre bacterias gram negativas, a través del método semicuantitativo de incorporación y de disco difusión en agar.

1.3. Objetivos

Objetivo general

Evaluar la eficacia de la adición de nisina y AEO, en el recuento de *S. aureus* en leche y en la calidad fisicoquímica, microbiológica y sensorial del queso fresco.

Objetivos específicos

- Evaluar la eficacia de las concentraciones de nisina (0, 250 y 500 UI/mL), AEO (0, 0.0025 y 0.005%) y sus combinaciones en el recuento de *S. aureus* en leche.
- Evaluar las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de quesos frescos elaborados a partir de leche tratada con nisina y AEO durante 1, 4 y 8 días de almacenamiento a 4°C.

1.4. Justificación e importancia

La salud y la vida de las personas depende de la calidad nutricional de los alimentos, la cual a su vez depende de la calidad higiénica y sanitaria de estos, y su escasa inocuidad provoca enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs), que en América Central se identificaron enfermedades gastrointestinales debido a infecciones e intoxicaciones bacterianas y eventualmente parasitarias, se muestran con síntomas de diarrea, dolor de cabeza, vómitos y fiebres, los microorganismos responsables de provocarlas son: coliformes fecales, *C. botulinum*, *C. perfringens*, *S. aureus*, *Bacillus cereus* tipo emético, *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella* sp., *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes* (Kopper *et al*., 2009).

En el Perú, se ha evaluado la calidad bacteriológica de los quesos frescos, y en la mayoría de estos trabajos los recuentos microbianos sobrepasan los límites permitidos por la Norma Técnica Peruana, indicando que la calidad higiénico sanitaria de los quesos evaluados en algunas regiones del país es deficiente, por lo tanto se concluyo que su consumo es un riesgo para la salud del consumidor, y que en algunos casos conlleva a contraer ETAs (Calampa *et al*., 2018; Vásquez *et al*., 2018; Cristóbal y Maurtua 2003).

El origen de esta alta carga microbiana en los quesos frescos, es porque existe una deficiente práctica higiénico sanitaria en el ordeño y en la fabricación de los productos, o por lo regular el lácteo destinado a la fabricación del queso fresco no se pasteuriza. Aun al aplicarse las nomas higiénicas de sanidad, si bien disminuye el número de microorganismos, no desaparecen, debido a que, existen bacterias que producen esporas que sobreviven a la pasteurización y pueden alterar el producto en lo posterior, o también, por la contaminación cruzada que pudiera existir.

Es por ello que, para una mayor seguridad en los productos lácteos, es necesario utilizar conservantes naturales, como agentes inhibidores de microorganismos patógenos, y que no alteren la calidad organoléptica de los productos, entre ellos se tiene a las bacteriocinas que son producto de la síntesis y fermentación de algunas bacterias lácticas o también se tiene a los aceites esenciales de algunas plantas que actúan como antiséptico frente a algunos microorganismos. En tal sentido, la presente investigación se enfocará en aplicar agentes antibacterianos como la nisina una bacteriocina y el AEO, en leche y quesos frescos.

1.5. Hipótesis

Hipótesis general

La adición de nisina y AEO mejora la calidad de la leche y quesos frescos.

Hipótesis específica

- La adición de nisina y AEO disminuye los recuentos del *S. aureus* en leche.
- La leche tratada con nisina y AEO mejora la calidad microbiológica manteniendo la calidad fisicoquímica y sensorial de los quesos frescos.

1.6. Variables

1.6.1. Objetivo 1

Independiente: Nisina (0, 250 y 500 UI/mL) y AEO (0, 0.0025 y 0.005%) y combinaciones.

Dependiente: Recuento de *S. aureus* en leche.

1.6.2. Objetivo 2

Independiente:

- **Tipos de queso**: Q0 (queso fresco elaborado sin adición de nisina ni AEO); Q1 (queso fresco elaborado a partir de leche con adición de 500 UI/mL de nisina y 0.0025% de AEO); Q2 (queso fresco elaborado a partir de leche con adición de 500 UI/mL de nisina).
- **Tiempo de almacenamiento**: 1, 4 y 8 días de almacenamiento a 4 °C.

Dependiente:

- **Análisis microbiológico**: Aerobios mesófilos, enterobacterias y esporas.
- **Análisis fisicoquímico**: Grasa, pH y sólido totales.
- **Sensorial**: prueba descriptiva (textura, sensación acuosa y aroma), apreciación.

Capítulo 2. MARCO TEÓRICO

2.1. El queso fresco

2.1.1. Términos y definición

Según el *Codex Alimentarius* (FAO/WHO, 2011), se entiende por queso: "Al producto blando, semiduro, duro y extra duro, madurado o no madurado, y que puede estar recubierto, en el que la proporción entre las proteínas de suero y la caseína no sea superior a la de la leche, obtenido mediante: (a) coagulación total o parcial de la proteína de la leche, leche desnatada/descremada, leche parcialmente desnatada/descremada, nata, nata de suero o leche de mantequilla/manteca, o de cualquier combinación de estos materiales, por acción del cuajo u otros coagulantes idóneos, y por escurrimiento parcial del suero que se desprende como consecuencia de dicha coagulación, respetando el principio de que la elaboración del queso resulta en una concentración de proteína láctica (especialmente la porción de caseína) y que por consiguiente, el contenido de proteína del queso deberá ser evidente más alto que el de la mezcla de los materiales lácteos ya mencionados en base a la cual se elaboró el queso; y/o (b) técnicas de elaboración que compartan la coagulación de la proteína de la leche y/o de productos obtenidos de la leche que dan un producto final que posee las mismas características físicas, químicas y organolépticas que el producto definido en el aparado (a)". Asimismo, se entiende por queso fresco a: "los productos que están listos para el consumo poco después de su fabricación".

La Norma Técnica Peruana (NTP), señala que el queso fresco es el queso blando, no madurado ni escaldado, moldeado, de textura relativamente firme, levemente granular, sin cultivos lácticos, obtenido por separación del suero después de la coagulación de la leche pasteurizada, entera, descremada o parcialmente descremada, o una mezcla de algunos de estos productos (INDECOPI, 2004).

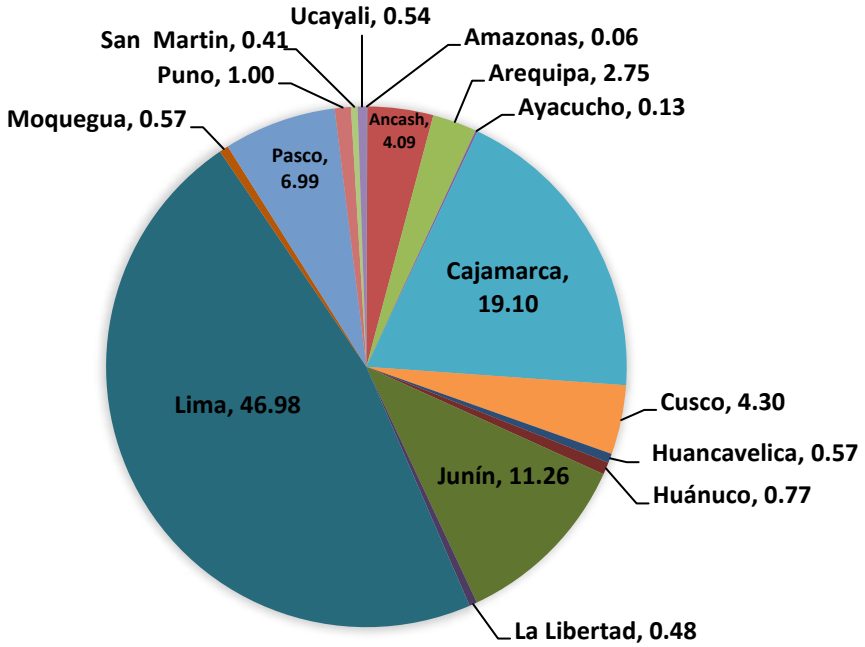


Figura 2.1. Producción de queso fresco a nivel nacional en porcentajes (MIDAGRI, 2021).

2.1.2. Producción y consumo

En el Perú, la producción de queso fresco para el año 2020 fue de 6550 toneladas, de las cuales, las regiones con mayor producción fueron Lima y Cajamarca con 3077 y 1251 toneladas, respectivamente. La producción de quesos de ambas regiones representa un ~ 66% del total nacional. Asimismo, en el mismo año en la región Moquegua, la producción de queso fresco fue de 37 toneladas, que representa un 0,57% de la producción nacional (Figura 2.1). Por otro lado, el consumo per cápita de queso fresco para el año 2009 a nivel nacional fue de 2,4 kg por persona, mientras que en la región Moquegua fue de 3,1 kg por persona (INEI, 2012).

2.1.3. Etapas de la fabricación de quesos

La elaboración del queso comprende en general cuatro etapas: la coagulación, el desuerado, el salado y el afinado (Eck, 1990), cuando no se lleva a cabo la última etapa se denomina queso fresco, hoy en día, se aplican procesos adicionales como: la

pasteurización o la regulación de la composición, es decir, agua, grasa, contenido de sal y pH del queso (Walstra *et al*., 2006).

A continuación, se desarrollan las etapas del proceso de fabricación: (1) pasteurización, es un tratamiento térmico, que se logra calentando la leche, a una intensidad de calor, es decir, la combinación de temperatura y la duración del calentamiento, los procesos más comunes son: pasteurización baja, a 63 °C durante 30 min (Fox *et al*., 2015) ó 74 °C durante 15 s (Walstra *et al*., 2006). (2) Coagulación, involucra la formación de un gel al coagular la caseina (Fox, 2011), y se puede lograr por acción de enzimas o ácido (o ambos) (Walstra *et al*., 2006). (3) Eliminación del suero, más conocido como desuerado o sinéresis, es la pérdida o separación del suero de las partículas de cuajada (gel inducido por cuajo), y se realiza por contracción del gel como proceso que fuerza o exprime el suero de la matriz (cuajada) a través de los poros (Lucey, 2011). La sinéresis del gel, se produce más rápidamente, cuando se corta o se rompe, y su velocidad depende, de la precisión del corte del coágulo (trozos y moldeo), composición de la leche (Ca^{2+} y caseína), pH, temperatura de cocción (queso madurado), velocidad de agitación de la mezcla de cuajada y suero y, el tiempo (Fox y Mcsweeney, 2004). El desuerado presenta en general dos fases: (a) desuerado principal, donde la mayor parte del suero es eliminado, se realiza entre el fin de la coagulación y el final del moldeado; (b) desuerado complementario, que va desde el desmoldado hasta el inicio del afinado (maduración del queso), esencialmente es debido a la operación del salado y secundariamente al oreado (Eck, 1990). (4) Salado, incorporación de la sal en la superficie, o en la masa, o por inmersión en salmuera (Eck, 1990).

2.1.4. Composición de los quesos frescos

a. Agua

El agua en el queso puede considerarse como agua total y está constituida de agua ligada y libre. El agua ligada está firmemente asociada a las proteínas y otros elementos del queso, y no está libre como solvente, en tanto que el agua libre se asocia libremente dentro de la red de proteínas y tiene capacidad solvente y es congelable a –40 °C

(Mcmahon *et al*., 1999). El contenido de agua en quesos frescos es alto como en los tipos: blanco (Walstra *et al*., 2006), crema, cottage, quark, fromage, y ricotta (Schulz-Collins y Senge, 2004). La composición de algunos quesos se observa en la Tabla 2.1 y la transferencia de los componentes de la leche al queso se observa en la Figura 2.2.

b. Carbohidratos

La lactosa es el principal hidrato de carbono, es un disacárido que ofrece gran importancia en la elaboración del queso, pues es el sustrato para la acción enzimática de las bacterias ácido lácticas en el proceso de fermentación láctica, propiónica, alcohólica y butírica en las que se produce ácido láctico (de propiedades antimicrobianas contra bacterias de la putrefacción, bacterias gramnegativas y hongos), anhidro carbónico, alcohol, ácido propiónico, ácido butírico y otros compuestos, que van a conferir a los quesos sus peculiaridades organolépticas (Revilla, 2009). La lactosa, se pierde con el lactosuero durante la producción de queso (MacCarthy *et al*., 2013).

c. Grasa

Las grasas están constituidas de moléculas de ácidos grasos individuales unidas al glicerol, cadena principal de tres carbonos, el tipo más común se denomina triglicérido, que contiene tres ácidos grasos unidos a una columna vertebral (Kongo y Malcata, 2015). Un componente principal del queso es la grasa (Walther et al., 2008), y su contenido varía según el contenido de leche y el proceso de fabricación de dicho producto lácteo. Además, los tipos de grasas son los triglicéridos, los ácidos grasos saturados y los ácidos grasos insaturados, incluidos los ácidos grasos mono y poliinsaturados que dan sabor y textura al queso (Kwak *et al*., 2011). Cuando se ajusta el contenido de grasa de la leche de quesería, se obtienen quesos con diferentes contenidos de grasa (expresados como porcentaje de materia grasa en seco), el contenido absoluto de grasa para quesos frescos es del 12% (Renner, 1993).

Tabla 2.1. Composición de algunos quesos frescos, por 100g (O'Callaghan *et al*., 2017).

Queso	Agua (g)	Proteína (g)	Grasa (g)	Carbohidrato (g)
Queso cottage	79.1	13.8	3.9	2.1
Ricotta	72.1	9,4	11.0	2.0
Fresco[1]	70,0	11,0	8,0	3,0

[1]Walther *et al.* (2008)

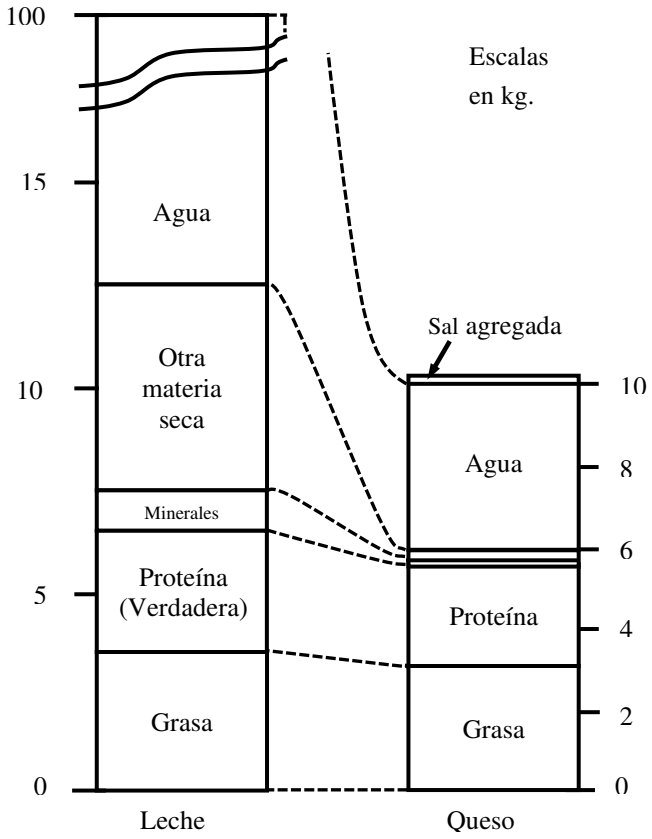


Figura 2.2. Transferencia de componentes de la leche al queso adaptado de Walstra *et al*. (2006).

d. Proteínas

Las proteínas son cadenas de moléculas de aminoácidos conectadas por enlaces peptídicos (Kongo y Malcata, 2015). Las proteínas de la leche son de dos tipos distintos, proteínas de suero (β-lactoglobulinas, α-lactoalbúminas, albúmina sérica e inmunoglobulinas) y caseínas (cinco clases: α_{s1}, α_{s2}, β-, γ-, y k-caseínas) (Varnam y Sutherland, 1994). Entre las proteínas de la leche, las caseínas son la proteína principal en el queso (Kwak *et al*., 2011). La proteína contenida en el queso se encuentra entre ~ 4 - 40% (MacCarthy et al., 2013) y varía inversa a la grasa (O'Brien y O'Connor, 2004).

La ligera deficiencia en aminoácidos azufrados de la caseína, demuestra que la proteína en el queso de 91 a 97, sea menor que en la leche de 100, respecto a su valor biológico (Walther *et al*., 2008). El 75-80% de la proteína total y aproximadamente el 95% de la caseína se transfieren de la leche al queso fresco (Renner, 1993).

e. Vitaminas y minerales

Los lípidos de la leche detienen las vitaminas liposolubles A, D, E y K, en la cuajada de queso (Parodi, 2004), el queso sólo contiene una concentración mínima de vitaminas hidrosolubles, alrededor del 15-20% y la otra fracción es separada en el lactosuero (Revilla, 2009). Los quesos son fuentes de vitamina B_{12}, vitamina A, niacina, riboflavina y folato (MacCarthy *et al*., 2013). Los quesos elaborados por coagulación con cuajo tienen un mayor contenido de calcio que los fabricados con coagulación ácida (Renner, 1993). El calcio en el queso está presente en una concentración elevada, equivalente a la de la leche (Recker *et al*., 1988), esto se debe a la formación de complejos entre el calcio y péptidos de caseína que protegen el fosfato de calcio contra la precipitación, permitiendo la absorción de calcio de caseína en el intestino (Ebringer *et al*., 2008). El contenido de vitaminas y minerales de algunos quesos frescos se observan en la Tablas 2.2 y 2.3.

Tabla 2.2. Contenido promedio de minerales (mg por 100 g) (Renner, 1993)**.**

Queso	Calcio	Fósforo	Sodio	Potasio	Magnesio
Queso fresco	90	190	30	120	9
Queso cottage	80	140	380	75	8
Mozzarella	400	340	450	100	16

Tabla 2.3. Contenido promedio de vitaminas (por 100 g) (Renner, 1993)**.**

Queso	A (mg)	B_1 (µg)	B_2 (mg)	B_6 (µg)	B_{12} (µg)	Ácido fólico (µg)	Tocoferol (mg)
Queso crema	0.44	27	0.26	45	1.0	15	0.9
Queso cottage	0.08	28	0.24	55	1.0	15	0.2

2.2. Características microbiológicas

2.2.1. En leche

La leche es un buen medio de crecimiento para muchos microorganismos debido a su pH casi neutro, su composición bioquímica compleja y su alto contenido de agua; pero, en el interior de la ubre es estéril debido al sistema inmune del animal y los agentes antibacterianos secretados en ella, su temperatura es ~ 38 °C, asimismo, puede contaminarse en el interior de la ubre, durante el ordeño o durante su almacenamiento, es por ello que, existen varias fuentes de contaminación: el aire, el suelo, el alimento, el lecho de descanso, la máquina de ordeño, la ubre interior, la ubre y pezones exteriores, el agua, el ser humano, las heces (Hassan y Frank, 2011), la mastitis y el tanque de almacenamiento (Fox *et al*., 2016). Los microorganismos encontrados en la leche (Tabla 2.4) se pueden dividir en tres grupos: patógenos productores de toxinas, agentes de descomposición, y productores de productos fermentados.

Uno de los microorganismos de importancia –desde el punto de vista de la salud– en la leche y demás productos lácteos es el *S. aureus.* El hábitat natural de éste incluye la piel y las membranas mucosas de los mamíferos. La mayor parte de la contaminación por esta bacteria ocurre durante el ordeño de los bovinos (Hassan y Frank, 2011). Los *Staphylococcus* son cocos grampositivos parecidos a un racimo de uvas y son aerobios y anaerobios facultativos, fermentadores de glucosa sin formación de gas, capaces de crecer en medios altamente salinos (hasta un 15% de NaCl). Además, tienen un poder patógeno que se basa en supuraciones, septicemias, gastroenteritis e intoxicaciones alimentarias, sobre todo las cepas patógenas capaces de producir enzimas, como la coagulasa, desoxirribonucleasa (DNA), fosfatasa, penicilasa, lipasa, etc., y toxinas como la hemolisinas (α, β, δ), la leucocidina y las enterotoxinas (Camacho, 2014).

Uno de los tratamientos empleados para reducir los recuentos microbianos es la pasteurización. En la Tabla 2.5, se muestra el efecto del tratamiento de algunos microorganismos encontrados en la leche antes y después de la pasteurización.

Tabla 2.4. Grupos de microorganismos encontrados en la leche (Hassan y Frank, 2011).

Patógenos	Agestes de descomposición	Productores de productos fermentados
Staphylococcus spp.	Bacterias psicrotóficas	*Lactococcus* spp.
Streptococcus spp.	*Pseudomonas fluorescens*	*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*
Campylobacter jejuni	Moraxellaceae	*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*
Yersinia spp.	*Shewanella putrefaciens*	*Streptococcus* spp.
Salmonella spp.	*Flavobacterium* spp.	*Streptococcus thermophilus*
Escherichia coli	*Alcaligenes* spp.	*Leuconostoc* spp.
Listeria spp.	Coliformes	*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*
Micobacterium spp.	Bacilus grampositivos formadores de esporas	*Lactobacillus* spp.
Brucella spp.	*Bacillus cereus*	*Lb. delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*
Coxiella burnetii	*Bacillus subtilis*	*Lb. delbrueckii* subsp. *Lactis,*
Aeromonas spp.	*Geobacillus stearothermophilus*	*Lb. acidophilus*
Bacillus spp.	*Bacillus coagulans*	*Lb. Helveticus*
Clostridium spp.	*Clostridium tyrobutyricum*	*Lb. helveticus* subsp. *jugurti*
Xanthomonas maltophilia	*Clostridium sporogenes*	*Propionibacterium* spp.
Klebsiella pneumoniae	Bacterias del ácido láctico	Coryneform Bacteria
Serratia spp.	*Lactobacillus* spp.	*Bifidobacterium* spp.
Proteus spp.	*Lactococcus* spp.	*Pediococcus* spp.
Enterobacter sakazakii	*Propionibacterium* spp.	*Micrococcus* spp.
Hafna alvei	*Enterococcus* spp.	Levaduras
Actinomices spp.	*Micrococcus* spp.	Mohos
Leptospira spp.	Levaduras	
Levaduras y mohos	Mohos	
Virus		
Protozoos		

Tabla 2.5. Microorganismos en leche cruda y pasteurizada (Fernandes, 2009).

Condición de la leche de quesería	Microorganismo
Leche cruda	Gram-negativo:
	Verocytotoxigenic *Escherichia coli*
	Salmonella
	Gram-positivo:
	Staphylococcus aureus
	Listeria monocytogenes
Leche pasteurizada	Gram-positivo:
	Micrococos
	Enterococos
	Esporas de *Bacillus*
	Esporas de *Clostridium*
Post-pasteurización	Gram-negativo:
	Coliformes
	Psicrófilos

2.2.2. En queso

El queso puede contener flora natural favorable, como resultado de la selección en la leche de estreptococos, lactococos y lactobacilos, o por añadir directamente estos como cultivos iniciadores, aunque, los quesos se contaminan con patógenos por la leche cruda de quesería y por supervivencia en el proceso de elaboración, o posterior a la fabricación si las medidas de sanidad en la fábrica no se cumplen para evitar la recontaminación (D'Amico y Donnelly, 2017).

Los microorganismos están presentes en el interior y en la superficie del queso, pudiendo causar defectos de sabor y textura debido a su crecimiento (Walstra *et al*., 2006). Los defectos microbianos más comunes del queso son el desarrollo de gases tempranos y tardíos. La formación temprana de gas ocurre dentro de 1 ó 2 días después de la fabricación, caracterizado por la aparición de agujeros pequeños en el queso, que es causado por bacterias coliformes y/o levaduras a partir de la lactosa, produciendo H_2 y CO_2, respectivamente, y es una problemática de los quesos blandos y semiduros (Cogan, 2011).

Un elevado contenido de coliformes fecales, coliformes totales y E. coli en los quesos frescos demuestra que el producto está contaminado, debido a leche de fabricación quesera usada o por los procedimientos de fabricación y comercialización deficientes. Asimismo, el elevado recuento de bacterias aerobias mesófilas evidencia malas condiciones sanitarias en la producción y la presencia de *S. aureus* representa un riesgo potencial para la salud del consumidor (Cristóbal y Maurtua, 2003).

a. Aerobios mesófilos

Es un grupo de microorganismos capaces de reproducirse en presencia de oxígeno a temperaturas medias de entre 25 – 40 °C, que incluye gérmenes patógenos y no patógenos (de alteración, saprofitos, etc.). Asimismo, algunos microorganismos no patógenos en elevadas cantidades pueden ser agentes etiológicos de enfermedad, como *Pseudomonas*, *Proteus* y *Bacillus* (Camacho, 2014).

b. Enterobacterias

La familia *Enterobacteriaceae* es un grupo grande y heterogéneo de bacterias gramnegativas, obtienen su nombre por la localización habitual como saprofitos en el tubo digestivo (Puerta-García y Mateos-Rodríguez, 2010), son aeróbicos y anaeróbicos facultativos, no esporulados, móviles o inmóviles, que fermentan la glucosa, reducen los nitratos a nitritos, son citocrooxidas negativos y crecen en medios que contienen sales biliares (Camacho, 2014). Las enterobacterias son microorganismos ubicuos, se encuentran de forma universal en el suelo, el agua y la vegetación y son parte de la flora intestinal normal de muchos animales, incluido el ser humano; las más frecuentes son: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia* (Murray *et al*., 2014).

Tabla 2.6. Microorganismos en algunos quesos frescos comercializados.

	Queso fresco artesanal[1]	Queso fresco[2]	Queso fresco[3]	Queso Aro[4]
Gram-negativo				
Aerobios mesófilos	6.6 log ufc/g	5.0 log ufc/g	5.6 log ufc/g	8.1 log ufc/g
Coliformes totales	2.9 log nmp/g	3.8 log nmp/g	3.5 log nmp/g	6.9 log ufc/g
Coliformes fecales	2.9 log nmp/g	3.7 log nmp/g	3.1 log nmp/g	-
Escherichia coli	2.4 log nmp/g	Positivo	-	6.7 log ufc/g
Salmonella en 25 g	-	-	-	Presencia
Psicrófilos	-	-	-	8.1 log ufc/g
Gram-positivo				
Staphylococcus aureus	5.4 log ufc/g	3.6 log ufc/g	5.1 log ufc/g	5.8 log ufc/g
Enterococcus faecalis	2.7 log nmp/g	-	-	-
Enterococcus spp.	-	-	-	6.6 log ufc/g

[1] Cristóbal y Maurtua (2003)
[2] Vásquez *et al*. (2018)
[3] Calampa *et al*. (2018)
[4] González y Franco (2015)

c. Esporas

Las esporas son células resistentes al calor, a sustancias químicas agresivas y a la radiación (Madigan *et al*., 2015). La espora es una estructura deshidratada formada por múltiples capas que protege a la bacteria y le permite vivir en un estado de latencia, posee una membrana interna, dos capas de peptidoglucano y una capa de proteína semejante a la queratina externa, en condiciones ambientales adversas, como la desaparición de un nutriente, las bacterias pueden pasar de un estado vegetativo a un estado de latencia o de espora; algunas bacterias pertenecientes a los géneros como *Bacillus* y *Clostridium* son capaces de formar esporas (Murray *et al*., 2017).

2.3. Especificaciones sanitarias de leche y queso fresco

El Decreto Supremo N° 007-2017 (MINAGRI, 2017), establece los requisitos que deben cumplir la leche cruda, pasteurizada y queso fresco (Tabla 2.7), destinados al consumo humano.

Tabla 2.7. Criterios microbiológicos de calidad e inocuidad de la leche cruda, pasteurizada y queso fresco (MINAGRI, 2017).

Agente microbiano	Unidad	Categoría	Clase	n	c	Límite por mL	
						m	M
Leche cruda							
Aerobios mesófilos	ufc/mL	3	3	5	1	5×10^5	10^5
Coliformes	ufc/mL	4	3	5	3	10^2	10^3
Leche pasteurizada							
Aerobios mesófilos	ufc/mL	3	3	5	1	2×10^4	5×10^4
Coliformes	ufc/mL	5	3	5	2	1	10
Queso fresco							
Coliformes	ufc/g	5	3	5	2	5×10^2	10^3
Salmonella sp.	P o A/25 g	10	2	5	0	A	…
Escherichia coli	nmp/g	6	3	5	1	3	10
Staphylococcus aureus	ufc/g	7	3	5	2	10	10^2
Listeria monocytogenes	P o A/25 g	10	2	5	0	A	…

Categoría: grado de riesgo que representa los microorganismos en relación a las condiciones previsibles de manipulación y consumo del alimento.

Clase: Es la clasificación que se dá a los planes de muestreo por atributos, pueden ser de 2 ó 3.

n: Número de unidades de muestra seleccionada al azar de un lote, que se analizan para los requerimientos de un determinado plan de muestreo.

c: Número máximo permitido de unidades de muestra rechazables en un plan de muestreo de 2 clases o número máximo de unidades de muestra que puede contener un número de microorgansmos comprendidos entre m y M en un plan de muestreo de 3 clases. Cuando se detecte un número de unidades de muestra mayor a c se rechaza el lote.

m: límite microbiológico que separa la calidad aceptable de la rechazable. En general, un valor igual o menor a m, representa un producto aceptable y los valores superiores a "m" indican lotes aceptables o inaceptables.

M: Los valores de recuentos microbianos superiores a M son inaceptables, el alimento representa un riesgo para la salud.

P = Presencia, A = Ausencia.

ufc = Unidades formadoras de colonias.
nmp = Número mas probable.

2.4. Uso de bacteriocinas en la elaboración de quesos frescos

Las bacteriocinas son péptidos con actividad antimicrobiana, segregadas por un gran número de bacterias para inhibir el crecimiento o destruir microorganismos patógenos (Monroy *et al*., 2009). Son péptidos bioactivos secretados extracelularmente y sintetizados ribosómicamente que tienen un efecto bactericida o bacteriostático sobre otras bacterias, existen bacteriocinas representativas caracterizadas a partir de bacterias del ácido láctico, y son: Nisina (A y Z), lacticin 481, lactocin S, carnocin U149, variacin, lacticin 3147, lactococcin A, lactococcin B, lactococcin M, lactacin F, mesenterocin 52B, curvaticin FS47, sakacin A, sakacin P, carnobacteriocin A y B, pediocin PA-1, leucocin A-UAL-187, enterocin 1146/A, piscicolin 126, y mesenterocin (Molloy *et al*., 2011).

2.4.1. Nisina

Es una bacteriocina producida por ciertas cepas de la bacteria acido láctica (BAL) *Lactococcus lactis* Sub sp. *lactis*, inhibe una amplia gama de bacterias Gram-positivas, incluidas cepas o especies de *Streptococcus*, *Staphylococcus*, lactobacilos, micrococos, *Lysteria* y la mayoría de las especies que forman esporas de *Clostridium* y *Bacillus*. Las bacterias Gram-negativas, las levaduras y los hongos normalmente no se ven

afectados (Molloy *et al*., 2011). La nisina es utilizada como conservador de alimentos, reconocida como GRAS (del inglés *Generally Recognized as Safe*).

La nisina es un péptido bactericida contra células sensibles, que al minuto de la adición ocasiona una muerte rápida. Esta bacteriocina afecta la síntesis de la pared celular y la integridad de la membrana celular, utiliza su segmento N-terminal para adherirse al lípido II como molécula de acoplamiento, específicamente en el resto de carbohidratos orientados fuera de la membrana celular; la bacteriocina cambia su orientación con relación a la membrana y se inserta en esta última, que involucra la translocación de su extremo carboxilo C-terminal a través de la membrana, varios péptidos al unirse en el lugar de inserción ocasionan que se forme un poro transmembranal que permite la fuga de aminoácidos y ATP (Cotter *et al*., 2005; Wiedemann *et al*., 2001).

2.5. Uso de aceites esenciales en la elaboración de quesos

Los aceites esenciales son líquidos oleosos aromáticos extraídos de diferentes partes de plantas específicas, bien conocidas especialmente por sus propiedades aromáticas y antibacterianas (Tabla 2.8) que pueden utilizarse como aditivos para aumentar la seguridad y la vida útil de alimentos (Amatiste *et al*., 2014).

Tabla 2.8. Actividad antibacteriana del aceite esencial de orégano (Albado *et al*., 2001).

	Cepa	**Diámetro de halo (mm)**	
		D.D.*	**I**
Gram positivos			
Staphylococcus aureus	ATCC 6538P	28	29
Bacillus cereus	(salvaje)	14	16
Gram negativas			
E. coli	ATCC 25922	16	16
Salmonella tiphymuriom	Aislado	15	16
Vibrio cholerae	ATCC 14033	15	15
Salmonella cholerae suis	ATCC 14028	14	18
Pseudomona aeruginosa	ATCC 24853	R	R

*D.D.=Disco difusión;
I= Incorporación; R= Resistente.

Capítulo 3. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y nivel de investigación

El tipo de investigación de esta tesis es experimental y el nivel de la investigación es explicativa, como lo expresa Gallardo (2017) la intención es revelar que la variable independiente ocasiona variaciones en la variable dependiente.

3.2. Ámbito temporal y espacial

El ámbito temporal es transversal, porque se realizó en el periodo de tiempo correspondiente a los años (2018 - 2019).

La leche se obtuvo del fundo "La Hoyada", ubicado en el Centro Poblado de Yacango, del distrito de Torata, de la región Moquegua. Los análisis fisicoquímico, microbiológico y sensorial, así como la elaboración de los quesos frescos se realizaron en los laboratorios de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial - UNAM.

3.3. Población y muestra

Población

Productores de leche de C.P. de Yacango.

Muestra

- Fundo la "Hoyada"

3.4. Procedimientos

3.4.1. Obtención de la leche y pasteurización

Se utilizó leche fresca de vaca proveniente de criadores locales del fundo "La Hoyada" (Yacango - Torata, Perú), y las muestras se recolectaron en recipientes refrigerados para uso exclusivo de la leche (cooler) a ~ 4 °C y se trasladaron a los laboratorios de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de Moquegua, Perú. Las muestras de leche se pasteurizaron a 72 ± 1 °C durante 15 s en botellas de vidrio con un baño termostático provisto de un agitador (YCW-10E, GEMMY, USA).

3.4.2. Preparación de nisina y aceite esencial de orégano

Se utilizó nisina en polvo de *Lactococcus lactis* (contenido de nisina al 2.5% m/m y potencia ≥ 10^6 UI/g) que fue comprado de la empresa Merck Peruana SA (Sigma-Aldrich, N5764, USA). La solución madre de nisina se preparó disolviendo 0.1 g de nisina en 10 mL de HCL 0.02 M para obtener una concentración de 10^4 UI/mL. Esta solución se calentó a 80 °C durante 7 min en un baño termostático (YCW-10E, GEMMY, USA), se mantuvo a –20 °C antes de su uso. Se prepararon concentraciones de 0, 250 y 500 UI/mL de nisina, adicionando 0, 0.025 y 0.05 mL de solución madre a 10, 8.975 y 8.95 mL de leche pasteurizada, respectivamente.

Se utilizó AEO con un índice de refracción de 1.6506-1.512 a 20 °C, adquirido de la empresa Merck Peruana SA (Sigma-Aldrich, W282812, USA). Se prepararon concentraciones de: 0, 0.0025 y 0.005% de aceite esencial en 100 mL de leche pasteurizada, respectivamente.

3.4.3. Activación e inoculación de *S. aureus*

Se utilizó pellets liofilizados de *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (código 0485E7, ATCC® 6538™), que fueron comprados de la empresa GenLab del Perú SAC. Para su activación se introdujo un pellet de cepa de microorganismos Epower™ en un matraz Erlenmeyer que contenía 100 mL de solución tampón fosfato estéril (solución madre,

pH 7.2) previamente calentada a 36 °C. Esta suspensión se introdujo en una incubadora (Binder BD53, Alemania) a 37 °C durante 30 min para su hidratación completa. Luego, se agitó el material hidratado hasta obtener una suspensión homogénea. Se estima que la concentración de microorganismos de esta preparación es de 5.00-5.99 log ufc/mL de *S. aureus* aproximadamente.

Un mililitro de suspensión homogénea fue inoculado en 10, 8.975 y 8.95 mL de leche pasteurizada enfriada de acuerdo a las combinaciones de nisina y AEO (Tabla 3.1). Luego, se mezcló con un vortex (Velp Scientifica F202A0175, Italia) a una velocidad de 1800 rpm durante 20 s. En la inoculación se utilizaron tubos con tapa estériles y se realizó dentro de una cabina de flujo laminar vertical (JRS, JSCB-1200SL, Corea) de acuerdo al flujograma ilustrado en la Figura 3.1.

3.4.4. Determinación de *S. aureus*

Para el análisis de *S. aureus* en leche, se utilizó el método de recuento en placa 3M™ Petrifilm™ Staph Express (AOAC, 2003.08) de acuerdo a los procedimientos establecidos por el fabricante (3M Microbiology, USA). Para obtener la dilución 10^{-1} se homogeneizó 1 mL de leche inoculada de *S. aureus* y 9 mL de diluyente estéril mezclándolo con un vortex (1800 rpm, 20 s). Se realizaron diluciones decimales hasta 10^{-4} en tubos con tapa estéril. La inoculación se realizó incorporando 1 mL de la muestra diluida en el centro de cada placa. Luego, el inóculo se distribuyó presionando suavemente con el esparcidor en el área circular de la placa. Las siembras de *S. aureus* realizadas en placas Petrifilm, se incubaron a 37 ± 1 °C durante 24 ± 2 h. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

3.4.5. Producción de queso fresco

Las leches previamente pasteurizadas y enfriadas en lotes de 9 L, se calentaron a 32 °C con agitación manual suave previo a la adición de $CaCl_2$ (0.03% p/v), NaCl (1% p/v) y agentes antibacterianos. La coagulación de la leche se realizó con 0.02 g/L de cuajo CHY-MAX Powder Extra NB (actividad ≥ 2080 IMCU/g, quimosina 100%, Chr Hansen SA, Dinamarca) a 32 °C durante 45 min. Después, la cuajada se cortó en cubos de ~ 1 cm, y se mantuvo en reposo a 37 °C durante 15 min. La cuajada fue llenada en

moldes de polietileno de uso alimentario (500 g, Primo SAC, Brasil) y el suero fue drenado en el propio molde durante 2 h a temperatura ambiente (~ 23 °C), de acuerdo al flujograma ilustrado en la Figura 3.1. Los quesos envasados se almacenaron a 4 °C durante 8 días.

Se elaboraron 3 tipos de quesos frescos: queso elaborado a partir de leche sin adición de nisina ni AEO (control, Q0), queso elaborado a partir de leche con adición de 500 UI/mL de nisina (Q1), y queso elaborado a partir de leche con adición de 500 UI/mL de nisina y 0.0025% de AEO (Q2).

3.4.6. Análisis fisicoquímico de quesos

Para determinar el contenido de grasa en los quesos se utilizó el método de Van-Gulik (ISO, 1975), introduciendo 3 ± 0.2 g de queso desmenuzado en la copa del butirómetro para queso, y posteriormente adicionando 15 mL de ácido sulfúrico al 72% y 1 mL de alcohol isoamílico (densidad = 0.811g/mL). Los butirómetros se cerraron y mezclaron hasta una digestión completa del queso. Posteriormente, el butirómetro se colocó en un baño isotérmico a 75 °C durante 5 min, y se centrifugó durante 5 min a 1350 rpm. La lectura se realizó directamente sobre la columna graduada del butirómetro.

Para determinar el pH en queso, se homogenizó 10 g de muestra de queso desmenuzado en agua destilada a una razón de queso/agua (1:10), luego se filtró en un vaso de precipitado y se tomó la medida del pH en la suspensión de queso utilizando un pH-metro (SI Analytics, Handylab 100, Alemania).

El porcentaje de sólidos totales en los quesos se determinaron utilizando el método de desecación en estufa a 102 °C (IDF, 2004), introduciendo ~ 3 g de queso desmenuzado en placas de aluminio previamente secadas y enfriadas y que a su vez contenían ~ 15 g de arena seca de mar. Posteriormente, las muestras de queso fueron mezcladas con la arena de mar mediante el uso de una varilla de vidrio. El secado se realizó en una estufa (Memmert, UN55, Alemania) a 102 °C durante 24 h. Los porcentajes de sólidos se determinaron por diferencia de masa.

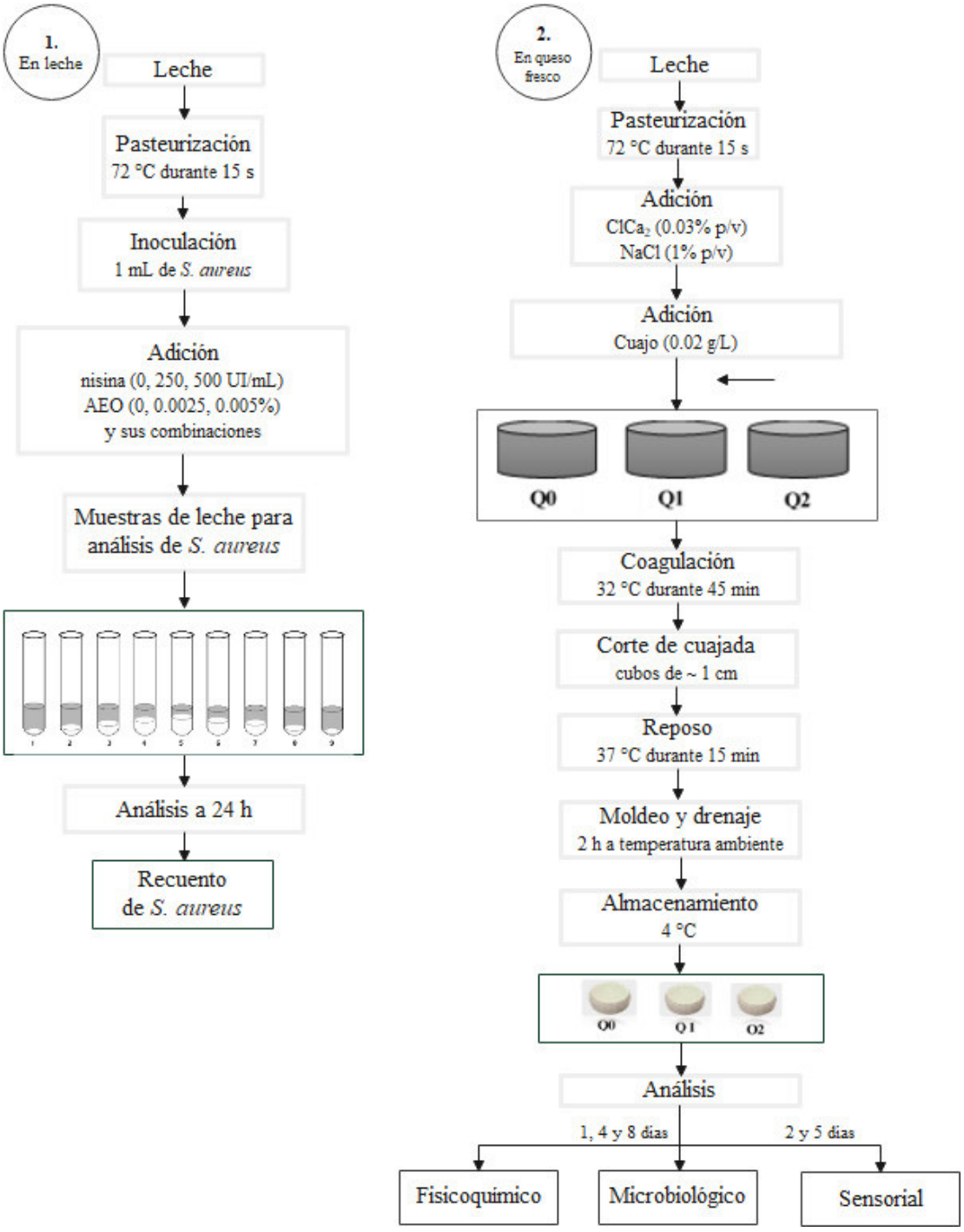


Figura 3.1 Flujograma experimental en leche y queso fresco.

Tabla 3.1. Tratamientos y factores de diseño.

Tratamiento	AEO (%)	Nisina (UI/mL)
1 (control)	0	0
2	0.0025	0
3	0.005	0
4	0	250
5	0.0025	250
6	0.005	250
7	0	500
8	0.0025	500
9	0.005	500

3.4.7. Análisis microbiológico de quesos

Para realizar los análisis microbiológicos se realizaron las diluciones adecuadas en agua de peptona. Para obtener la dilución inicial 10^{-1} se tomaron 10 g de queso que fueron diluidos en 90 mL de agua peptona estéril (GranuCult™, Merck, Alemania) durante 2 min. Las siguientes diluciones decimales se ejecutaron con agua peptonada hasta 10^{-5}. En los procesos se empleó la técnica de vertido en placa. La siembra de mesófilos aerobios se realizó en medio agar de conteo de placas PCA (M091, Himedia™, India) que se incubaron a 30 °C durante 48 h. Las enterobacterias fueron sembradas en agar bilis al rojo violeta (VRBA, TM Media) y se incubaron a 37 °C durante 24 h. Para el análisis de las esporas, las muestras de queso diluidas en agua peptonada se sometieron a un choque térmico (85 °C, 15 min) y enfriado inmediatamente en un baño con hielo a 4 °C. La siembra se realizó en medio PCA y fueron incubados a 30 °C durante 48 h. Todas las pruebas se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron en UFC/g. Los análisis se realizaron a 0, 4 y 8 días de almacenamiento a 4 °C.

3.4.8. Análisis sensorial de quesos

Para el análisis sensorial de los quesos frescos se utilizó una prueba descriptiva y de aceptación, donde participaron 8 consumidores habituales de queso fresco. Las muestras de queso se cortaron en tajadas y se colocaron en platos blancos y se

codificaron con 3 dígitos al azar. En los intervalos de prueba entre quesos se ofrecieron agua y galletas a los consumidores para disipar los sabores y olores. Primero, se solicitó a los consumidores que indicaran las diferencias de percepción de textura (dureza), sensación acuosa y aroma de los quesos frescos en comparación al queso control (Q0). La escala utilizada fue: 0 = no existe diferencias; ± 1 = diferencias mínimas; ± 2 = diferencias notables; ± 3 = diferencias considerables; ± 4 = diferencias muy considerables (Anexo 1). Por último, los consumidores organizaron los quesos según su apreciación en una escala hedónica de 9 puntos, donde 9 = gusta extremadamente, 5 = no gusta ni disgusta y 1 = disgusta extremadamente (Lawless & Heymann, 2010).

El análisis sensorial se realizó al día 2 y 5 de almacenamiento, luego de comprobar su aptitud mediante la realización de análisis microbiológicos considerando la NTS Nº 071 MINSA/DIGESA (2008).

3.5. Análisis Estadístico

Para evaluar el efecto de las diferentes concentraciones de nisina y AEO en el recuento microbiano de *S. aureus* en leche, se utilizó un diseño factorial $3^2 = 9$ tratamientos, que corresponden en combinar dos factores en tres niveles cada uno (Tabla 3.1). Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA), determinando diferencias significativas entre tratamientos mediante la prueba Duncan ($P < 0.05$). de todos los datos y los días de muestreo.

Para evaluar las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de los quesos frescos, se realizó un análisis de varianza (ANOVA). Se utilizó un diseño en bloques completos al azar (DBCA) considerando los procesamientos de queso como bloques, los tratamientos aplicados a los quesos como factor principal dentro de los días de almacenamiento. Para la comparación múltiple de los promedios de los datos, se utilizó la prueba de Duncan a un nivel de significación de $P < 0.05$.

En ambos estudios, los análisis de los datos se realizaron mediante el programa R versión 1.4.1103.

Capítulo 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Recuento microbiológico de *S. aureus* en leche

La adición de 0.0025 y 0.005% de AEO a la leche, no redujo los recuentos microbianos de *S. aureus* después de 24 h de incubación en comparación con la leche control (sin adición de nisina ni AEO) (Tabla 4.1) aunque se observa una ligera disminución de ~ 0.22 y ~ 0.15 log ufc/mL, respectivamente.

Sin embargo, la adición de 250 y 500 UI/mL de nisina redujo significativamente los recuentos microbianos de *S. aureus* en ~ 1 y ~ 1.3 log ufc/mL después de 24 h de incubación a 37 °C, respectivamente, en comparación a la leche control (Tabla 4.1). En diferentes muestras de leche reconstituida al 10% (m/v) con concentraciones de 400 y 500 UI/mL de nisina, Felicio *et al*. (2015) reportaron una reducción de ~ 1.3 y un incremento de ~ 1.2 log ufc/mL de *S. aureus*, respecto al control, después de 8 y 24 h de incubación a 37 °C, respectivamente. En otra investigación, una concentración de 10000 UI/mL de nisina en muestras de leche UHT con 0.04% de grasa fue capaz de reducir 4.68 y 0.37 log ufc/mL de *S. aureus*, respecto al control, después de 4 y 24 h de incubación a 37 °C, respectivamente. Este comportamiento fue atribuido a las bacterias resistentes a la nisina (Arqués *et al*., 2011).

En las combinaciones de AEO y nisina ocurre un leve incremento del recuento de *S. aureus* (tratamientos 5, 6, 8 y 9) respecto a los tratamientos 4 y 7. Debido a que, el aceite esencial y la grasa del queso, reducen la actividad inhibidora de la nisina. Dean y Zottola (1996) descubrieron que la nisina tenía menor inhibición contra *Listeria monocytogenes*, en helados con 10% de grasa que, con 3%. Coma *et al*. (2001) reportaron que la grasa al interactuar con la nisina reduce su actividad inhibidora.

Tabla 4.1. Recuento microbiológico de *S. aureus* en leche pasteurizada a diferentes dosis de nisina y AEO después de 24 h de incubación a 37 °C.

Tratamiento	Aceite esencial de orégano (%)	Nisina (UI/mL)	Promedio de *S. aureus* (log ufc/mL)
1 (control)	0	0	3.54 ± 0.08^{a}
2	0.0025	0	3.31 ± 0.14^{a}
3	0.005	0	3.39 ± 0.04^{a}
4	0	250	2.20 ± 0.33^{cd}
5	0.0025	250	2.66 ± 0.00^{bc}
6	0.005	250	2.73 ± 0.02^{b}
7	0	500	1.88 ± 0.48^{d}
8	0.0025	500	2.41 ± 0.08^{bc}
9	0.005	500	2.32 ± 0.31^{bcd}

Distintas letras en la misma columna (a, b, c y d) indican diferencias entre tratamientos ($P<0.05$).

4.2. Análisis fisicoquímico de quesos

Tabla 4.2. Análisis fisicoquímico de quesos frescos a 1, 4 y 8 días de almacenamiento a 4 °C.

	Día	Quesos[1]		
		Q0	Q1	Q2
Grasa (g/100g)	1	$16.20^{Ca} \pm 0.30$	$16.23^{Ca} \pm 0.64$	$16.15^{Ca} \pm 0.41$
	4	$16.83^{Ba} \pm 0.58$	$17.30^{Ba} \pm 0.61$	$16.65^{Ba} \pm 0.54$
	8	$17.50^{Aa} \pm 0.50$	$17.80^{Aa} \pm 0.20$	$17.67^{Aa} \pm 0.76$
pH	1	6.56 ± 0.26	6.59 ± 0.21	6.49 ± 0.16
	4	6.68 ± 0.19	6.62 ± 0.18	6.57 ± 0.23
	8	6.75 ± 0.27	6.71 ± 0.13	6.74 ± 0.20
Sólidos totales (g/100g de queso)	1	$35.41^{Ca} \pm 0.46$	$36.28^{Ca} \pm 0.90$	$35.25^{Ca} \pm 0.68$
	4	$37.08^{Ba} \pm 0.61$	$37.16^{Ba} \pm 0.54$	$36.71^{Ba} \pm 0.67$
	8	$37.71^{Aa} \pm 0.67$	$37.96^{Aa} \pm 0.61$	$37.75^{Aa} \pm 1.03$

Los datos representan promedios ± desviación estándar. Distintos superíndices en la misma fila (a, b, c) indican diferencias entre tipos de quesos o en las columnas (A, B, C) indican diferencias entre los días de almacenamiento ($p < 0.05$).

[1] Q0: queso fresco elaborado sin adición de nisina ni AEO; Q1: queso fresco elaborado a partir de leche con adición de 500 UI/mL de nisina y 0.0025% de AEO; Q2: queso fresco elaborado a partir de leche con adición de 500 UI/mL de nisina.

La composición de los quesos frescos se muestra en la Tabla 4.2. La adición de nisina y AEO a la leche de quesería no variaron el pH de los quesos mostrando valores de 6.49 a 6.74. Estos valores fueron similares a los obtenidos por Hernando (1998) en queso de Burgos, Al-Holy *et al*. (2012) en quesos blancos en salmuera, Zamora *et al*. (2012) y Mayta-Hancco *et al*. (2019) en quesos frescos.

El contenido de grasa de los quesos frescos no fue afectado por la adición de nisina y AEO (Tabla 4.2.). Sin embargo, durante el almacenamiento los valores se incrementan levemente debido a que, cuando la leche se convierte en queso, la caseína y la grasa se concentran, mientras que los otros componentes de la leche, especialmente el agua, se eliminan principalmente junto con el suero (Walstra *et al*., 2006). El porcentaje de grasa promedio en todos los quesos frescos fue de ~ 16%, cumpliendo con la denominación de quesos frescos (NTP 202.95-2004). Dato similar a los mostrados por Sieber *et al*. (2011) con 18.5% en queso fresco, O'Callaghan *et al*. (2017) con 11% en queso ricotta.

En cuanto a sólidos totales de los quesos frescos con y sin adición de nisina y AEO se aprecia que no se presentó diferencia significativa en los datos obtenidos entre los tratamientos (Q1 y Q2 respecto de Q0), no obstante, en el periodo de almacenamiento, se observó un incremento de todos los puntajes. Esto debido a que se desarrolla un desuerado complementario que es la evacuación del lactosuero del queso, siendo un fenómeno dinámico caracterizado por la cantidad de lactosuero expulsado en función del tiempo (Eck, 1990). Obteniéndose una concentración de la caseína y la grasa (Walstra *et al*., 2006). Los valores de sólidos totales encontrados oscilan entre 35.25 y 37.96%. Datos similares encontrados por Garrido (2014) de 38.75 y 43.73% para quesos frescos elaborados con leche de vaca.

4.3. Recuento microbiológico de quesos

Tabla 4.3. Recuento microbiano (log ufc/g) de quesos frescos a 1, 4 y 8 días de almacenamiento a 4 °C.

Grupo microbiano	Día	Quesos[1]		
		Q0	**Q1**	**Q2**
Aerobios mesófilos	1	3.71 ^{Ba} ± 0.90	2.50 ^{Bb} ± 0.05	2.02 ^{Bb} ± 0.13
	4	4.49 ^{Aa} ± 0.59	3.01 ^{Ab} ± 0.17	2.78 ^{Ab} ± 0.13
	8	4.69 ^{Aa} ± 0.36	3.02 ^{Ab} ± 0.17	2.98 ^{Ab} ± 0.18
Enterobacterias	1	Nd ^{Ba}	Nd ^{Ba}	Nd ^{Ba}
	4	2.22 ^{Ba} ± 1.93	Nd ^{Bb}	Nd ^{Bb}
	8	3.54 ^{Aa} ± 0.69	3.23 ^{Aa} ± 0.48	2.68 ^{Aa} ± 0.84
Esporas	1	Nd ^{Ba}	Nd ^{Ba}	Nd ^{Ba}
	4	2.93 ^{Aa} ± 0.29	1.97 ^{Aa} ± 1.76	2.05 ^{Aa} ± 1.80
	8	4.50 ^{Aa} ± 0.81	2.39 ^{Aa} ± 2.14	2.28 ^{Aa} ± 2.03

Los datos representan promedios ± desviación estándar. Distintos superíndices en la misma fila (a, b, c) indican diferencias entre tipos de quesos o en las columnas (A, B, C) indican diferencias entre los días de almacenamiento ($p < 0.05$).
Nd: no detectado (por debajo el límite de detección).
[1] Q0: queso fresco elaborado sin adición de nisina ni AEO; Q1: queso fresco elaborado a partir de leche con adición de 500 UI/mL de nisina y 0.0025% de AEO; Q2: queso fresco elaborado a partir de leche con adición de 500 UI/mL de nisina.

La calidad microbiológica de los quesos frescos con y sin adición de nisina y AEO se muestra en la Tabla 4.3. En general, la adición de nisina y AEO redujeron el recuento microbiano de aerobios mesófilos en ~ 1 log ufc/g en Q1 y Q2, respecto a Q0. Castro *et al*. (2009) también observaron disminuciones de ~ 3 log ufc/g en el recuento de aerobios mesófilos en muestras de queso blanco y fue atribuido a la adición directa de la nisina. En general, la nisina en combinación con tratamientos físicos inhiben el crecimiento bacterias grampositivas (Molloy *et al*., 2011) desestabilizando la membrana externa principalmente (Punyauppa-path *et al*., 2015). Por otro lado, Marcial *et al*. (2016) reportaron mínimas reducciones de mesófilos aerobios (~ 0.19 log ufc/g) al día 5 de almacenamiento en muestras de queso argentino elaborado con AEO.

No se detectaron recuentos de enterobacterias en los quesos frescos elaborados con adición de nisina y AEO (Q1 y Q2) al día 1 y 4 de almacenamiento. Sin embargo, al

día 8 de almacenamiento estos quesos presentaron un recuento de ~ 3 log ufc/g que fueron similares al queso control (Q0).

Durante el tiempo de almacenamiento, los recuentos de mesófilos aerobios y esporas de todos los quesos se incrementaron a partir del día 4 de almacenamiento, mientras que el recuento de enterobacterias de los quesos con adición de nisina y AEO fue a los 8 días de almacenamiento.

Los criterios microbiológicos para el queso fresco en Perú, se rigen por la "Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano" - NTS Nº 071 MINSA/DIGESA (2008), donde se establecen límites microbianos para coliformes en quesos frescos (n = 5, c = 2, m = 5×10^2, M = 10^3), donde n es el número de unidades de la muestra; c es el número máximo de unidades de muestra que puede contener un número de microorganismos comprendidos entre m y M; m es el límite microbiológico que se separa la calidad aceptable de la rechazable; M es el máximo número de bacterias. Por lo tanto, los recuentos de los quesos elaborados con adición de nisina y aceite esencial (Tabla 4.3) se ubican por debajo de las recomendaciones higiénico sanitarias máximas (3 log ufc/g) hasta el día 4 de almacenamiento, respectivamente, siendo considerados como aceptables.

4.4. Análisis sensorial

Los atributos sensoriales de dureza, sensación acuosa y aroma de los quesos frescos se muestran en la Tabla 4.4. Aunque no se percibieron diferencias estadísticas en la dureza de Q1 y Q2, los consumidores describieron como más duros, respecto a Q0. La adición de 500 UI/mL de nisina a la leche de quesería aumentó la sensación acuosa en Q2 en comparación a Q0 y Q1. La percepción de la sensación acuosa de los quesos frescos fue relacionada al contenido de humedad (Mayta-Hancco *et al*., 2019).

Soares *et al*. (2011) observaron incrementos de humedad en muestras de quesos tradicionales de Minas Gerais (Brasil) elaborados a partir de leche de vaca con adición de 500 UI/mL de nisina, y fue atribuido a la acción de la nisina sobre las bacterias

responsables de la proteólisis que generaron mayor número de cadenas polipeptídicas y moléculas de agua de solvatación.

Sin embargo, los niveles de humedad en todos los quesos de nuestro experimento fueron similares (Tabla 4.2). La adición de AEO a la leche de fabricación quesera incrementó notablemente el aroma de Q1 en comparación a Q0 y Q2. Este incremento en el aroma es debido a los principales componentes del AEO, tales como el carvacrol, timol, γ-terpineno y *p*-cimeno (De Souza *et al*., 2016).

Los consumidores prefirieron Q2 y Q0 (control), calificándolos como "me gusta moderadamente" con una puntuación promedio de 6.9 y 6.7, respectivamente. Estos quesos fueron descritos por los consumidores como quesos con textura, sensación acuosa y aroma aceptables. Por otro lado, Q1 alcanzó el calificativo de "me gusta ligeramente", con una calificación promedio de 5.5 puntos, descrito por los consumidores como un queso con aroma intenso a orégano. Los datos se observan en la Figura 4.1.

Tabla 4.4. Análisis sensorial de quesos frescos después de 2 días de almacenamiento a 4 °C.

Atributo sensorial	**Quesos[1]**		
	Q0	**Q1**	**Q2**
Dureza	0.00 ^{b}	0.79 ^{a} ± 1.77	1.21 ^{a} ± 1.14
Sensación acuosa	0.00 ^{b}	0.17 ^{b} ± 1.49	0.96 ^{a} ± 1.37
Aroma	0.00 ^{b}	1.33 ^{a} ± 2.10	0.58 ^{b} ± 1.25

Los datos representan promedios ± desviación estándar. Distintos superíndices en la misma fila (a, b, c) indican diferencias entre tipos de quesos ($p < 0.05$).

[1] Q0: queso fresco elaborado sin adición de nisina ni AEO; Q1: queso fresco elaborado a partir de leche con adición de 500 UI/mL de nisina y 0.0025% de AEO; y Q2: queso fresco elaborado a partir de leche con adición de 500 UI/mL de nisina.

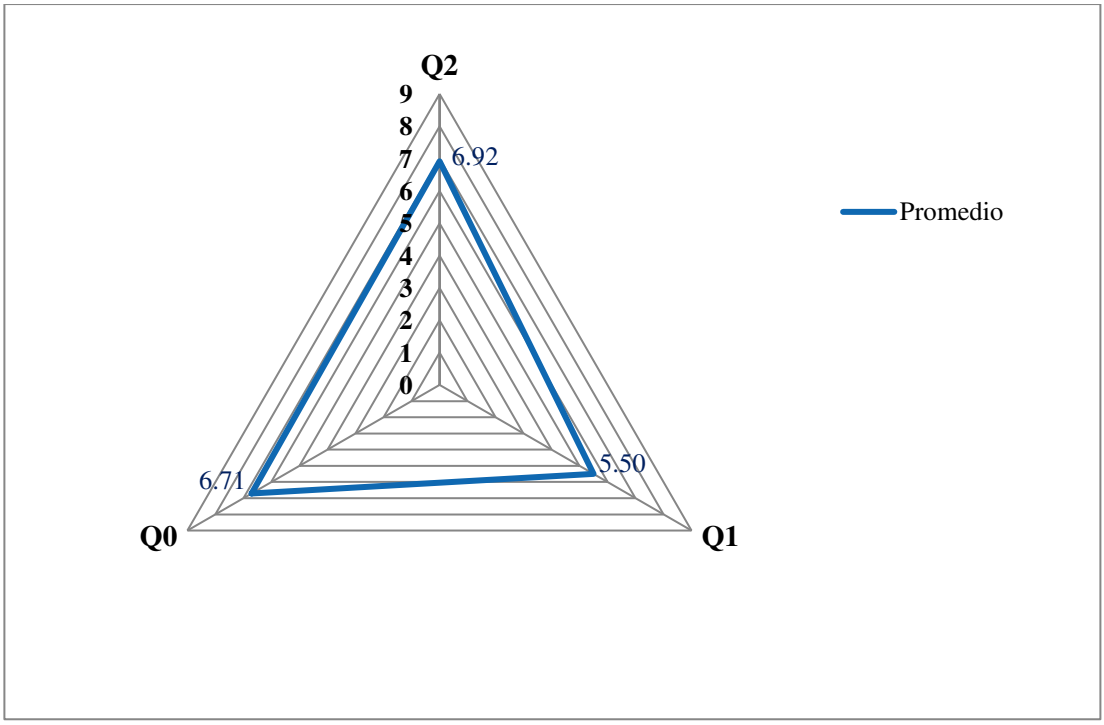


Figura 4.1. Aceptación por tipo de quesos.

Q0: Queso fresco elaborado sin adición de nisina ni AEO; Q1: queso fresco elaborado con adición de nisina y AEO (500 UI/mL y 0.0025%), respectivamente; Q2: queso fresco elaborado con adición de nisina (500 UI/mL).

CONCLUSIONES

Este estudio muestra que la adición de nisina a la leche, en particular 500 UI/mL, resulta ser efectiva para reducir el desarrollo de *S. aureus* en la leche, y de enterobacterias, aerobios mesófilos y esporas en quesos frescos. Las características fisicoquímicas de los quesos elaborados con nisina y AEO mostraron que el pH se mantuvo constante durante el almacenamiento en refrigeración, mientras que el contenido de grasa y sólidos totales aumentó por el drenaje del lactosuero. La adición de AEO no tuvo ningún efecto sobre *S. aureus* en la leche, y en los quesos elaborados a partir de una combinación de nisina y AEO produjo un intenso aroma a orégano que no fue apreciado por los consumidores. Contrariamente, los quesos elaborados a partir de leche adicionada de nisina presentaron mayor aceptación por los consumidores al igual que el queso control (sin adición de nisina ni AEO) y fueron descritos como quesos con textura, sensación acuosa y aroma aceptables. El uso de nisina como antimicrobiano puede contribuir a la seguridad de la leche y el queso fresco.

BIBLIOGRAFÍA

Aguirre, A. D. (2015). Calidad microbiológica y su relación con la vida útil en quesos frescos expendidos en tres mercados de Trujillo. Agosto – Octubre, 2014. *Universidad César Vallejo*, *4*(1), 11–17.

Al-Holy, M. A., Al-Nabulsi, A., Osaili, T. M., Ayyash, M. M., & Shaker, R. R. (2012). Inactivation of Listeria innocua in brined white cheese by a combination of nisin and heat. *Food Control*, *23*(1), 48–53. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.06.009

Albado, E., Saez, G., & Grabiel, S. (2001). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del Origanum vulgare (orégano). *Revista Médica Herediana*, *12*(3), 16–19.

Amatiste, S., Sagrafoli, D., Giacinti, G., Rosa, G., Carfora, V., Marri, N., Tammaro, A., Bovi, E., & Rosati, R. (2014). Antimicrobial activity of essential oils against Staphylococcus aureus in fresh sheep cheese. *Italian Journal of Food Safety*, *3*(3), 148–150. https://doi.org/10.4081/ijfs.2014.1696

AOAC Official Method. (2003). *Enumeration of Staphylococcus aureus in selected dairy foods*.

Arqués, J. L., Fernández, J., Gaya, P., Nuñez, M., Rodríguez, E., & Medina, M. (2004a). Antimicrobial activity of reuterin in combination with nisin against food-borne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, *95*(2), 225–229. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.009

Arqués, J. L., Fernández, J., Gaya, P., Nuñez, M., Rodríguez, E., & Medina, M. (2004b). Antimicrobial activity of reuterin in combination with nisin against food-borne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, *95*(2), 225–229. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.009

Arqués, J. L., Rodríguez, E., Nuñez, M., & Medina, M. (2011). Combined effect of reuterin and lactic acid bacteria bacteriocins on the inactivation of food-borne pathogens in milk. *Food Control*, *22*(3–4), 457–461. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.09.027

Asensio, C. M., Grosso, N. R., & Rodolfo Juliani, H. (2015). Quality preservation of organic cottage cheese using oregano essential oils. *LWT - Food Science and Technology*, *60*(2), 664–671. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.10.054

Bouamra-Mechemache, Z., Réquillart, V., Soregaroli, C., & Trévisiol, A. (2008). Demand for dairy products in the EU. *Food Policy*, *33*(6), 644–656. https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2008.05.001

Calampa, L., Fernández-Jerry, A., & Bernal, W. (2018). Evaluación de la calidad fisicoquímica y microbiológica de queso fresco en las cuencas lecheras de la Región Amazonas. *Agroindustrial Science*, *8*(2), 117–121. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.17268/agroind.sci.2018.02.06

Camacho, G. S. (2014). *Ensayos microbiológicos*. Síntesis. https://www.casadellibro.com/libro-ensayos-microbiologicos/9788490775035/2319335

Castro, G., Valvuena, M., Briñez, W., Sánchez, E., Vera, H., & Tovar, A. (2009). Comparación

del empleo de nisina y cultivos de Lactococcus lactis subsp. lactis para la biopreservación de queso blanco. *Revista Cientifica, FCV-LUZ*, *XIX*(2), 201–209.

Cogan, T. M. (2011). Microbiology of Cheese. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Second Edi, pp. 625–631). Elsevier Ltd.

Coma, V., Sebti, I., Pardon, P., Deschamps, A., & Pichavant, F. H. (2001). Antimicrobial edible packaging based on cellulosic ethers, fatty acids, and nisin incorporation to inhibit Listeria innocua and Staphylococcus aureus. *Journal of Food Protection*, *64*(4), 470–475. https://doi.org/10.4315/0362-028X-64.4.470

Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2005). Bacteriocins: Developing innate immunity for food. *Nature Reviews of Microbiology*, *3*, 777–788. https://doi.org/10.1038/nrmicro1240

Cristóbal, R. L., & Maurtua, D. J. (2003). Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de Lactobacillus spp. *Revista Panamericana de Salud Pública*, *14*(3), 158–164. https://doi.org/10.1590/S1020-49892003000800002

D'Amico, D. J., & Donnelly, C. W. (2017). Growth and Survival of Microbial Pathogens in Cheese. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology: Fourth Edition* (Fourth Edi, Vol. 1, pp. 573–594). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00022-3

da Silva, C. T. J., da Silva, A. C., de Matos, L. G., da Silva do Nascimento, M., Camargo, C. H., Cobo Zanella, R., Mores Rall, V. L., & Cirone Silva, N. C. (2020). Enterotoxigenic potential and molecular typing of Staphylococcus sp. isolated from organic and conventional fresh minas cheese in the state of São Paulo, Brazil. *International Dairy Journal*, *102*, 104605. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.104605

De Souza, G. T., De Carvalho, R. J., De Sousa, J. P., Tavares, J. F., Schaffner, D., De Souza, E. L., & Magnani, M. (2016). Effects of the essential oil from origanum vulgare L. on survival of pathogenic bacteria and starter lactic acid bacteria in semihard cheese broth and slurry. *Journal of Food Protection*, *79*(2), 246–252. https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-172

Dean, J. P., & Zottola, E. A. (1996). Use of nisin in ice cream and effect on the survival of Listeria monocytogenes. *Journal of Food Protection*, *59*(5), 476–480. https://doi.org/10.4315/0362-028X-59.5.476

Ebringer, L., Ferenčík, M., & Krajčovič, J. (2008). Beneficial health effects of milk and fermented dairy products - Review. *Folia Microbiologica*, *53*(5), 378–394. https://doi.org/10.1007/s12223-008-0059-1

Eck, A. (1990). *El Queso* (Primera ed). Omega.

FAO/WHO. (2011). Milk and Milk Products. In *CODEX Alimentarius* (2nd. Ed.). Food and Agriculture Organization of he United Nations (FAO) and World Health Organization (WHO). http://www.fao.org/docrep/015/i2085e/i2085e00.pdf

Felicio, B. A., Pinto, M. S., Oliveira, F. S., Lempk, M. W., Pires, A. C. S., & Lelis, C. A. (2015). Effects of nisin on Staphylococcus aureus count and physicochemical properties of Minas Frescal cheese. *Journal of Dairy Science*, *98*(7), 4364–4369. https://doi.org/10.3168/jds.2015-9520

Fernandes, R. (2009). *Microbiology Handbook: Dairy Products*. Leatherhead Food International Ltd.

Food Safety Authority of Ireland. (2011). *Staphylococcus aureus* (Issue 1, pp. 1–5). https://www.fsai.ie/staphylococcusaureus.html

Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H., & O'Mahony, J. A. (2015). Water in Milk and Dairy Products. In P. F. Fox, T. Uniacke-Lowe, P. L. H. McSweeney, & J. A. O'Mahony (Eds.), *Dairy Chemistry and Biochemistry* (2nd ed., pp. 299–320). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14892-2

Fox, P F. (2011). Overview. In *ENCYCLOPEDIA OF DAIRY SCIENCES* (Patrick F., pp. 534–542). Elsevier Ltd.

Fox, P F, & Mcsweeney, P. L. H. (2004). Cheese : An Overview. In Patrick F Fox, P. L. H. McSweeney, T. M. Cogan, & T. P. Guinee (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (Third Edit, Vol. 1, pp. 11–12). Elsevier Ltd.

Fox, P F, Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H., & O'Mahony, J. A. (2015). Dairy Chemistry and Biochemistry. In *Dairy Chemistry and Biochemistry* (Second Edi). Springer International Publishing Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14892-2

Fox, Patrick F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. H. (2016). Fundamentals of cheese science, second edition. In *Fundamentals of Cheese Science, Second Edition*. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9

Gallardo, E. (2017). Metodología de la Investigación. In *Universidad Continental* (1st ed., Vol. 1).

Garrido, N. R. I. (2014). *Elaboración de queso fresco tipo mezcla (leche de cabra y leche de vaca) y determinación de sus características físico-químicas y sensoriales*. http://repositorio.unp.edu.pe/handle/UNP/897

González, L., & Franco, M. (2015). Perfil microbiológico del queso de aro consumido en la Cañada Oaxaqueña. *Revista Brasileña de Tecnología de Alimentos*, *18*(3), 250–257. https://doi.org/10.1590/1981-6723.7514

Govaris, A., Solomakos, N., Pexara, A., & Chatzopoulou, P. S. (2010). The antimicrobial effect of oregano essential oil , nisin and their combination against Salmonella Enteritidis in minced sheep meat during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology*, *137*(2–3), 175–180. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.12.017

Hassan, A. N., & Frank, J. F. (2011). Microorganisms Associated With Milk. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Second Edi, pp. 447–457). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00309-5

Hernando, M. I. (1998). *Estudio de los principales cambios quimicos y microestructurales ocurridos en el queso de burgos durante su vida util. PhD Thesis.* [Universitat Politécnica de Valencia, España.]. https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=245724&info=resumen&idioma=SPA

Hnosko, J., Clark, S., & Van Hekken, D. (2009). Latin American Cheeses. In S. Clark, M. Costello, M. Drake, & F. Bodyfelt (Eds.), *The Sensory Evaluation of Dairy Products* (2nd ed., Vol. 1996, pp. 489–504). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-0-387-77408-4

IDF. (2004). *Cheese and processed cheese - Determination of the total solids content IDF Standard 004: 2004 Brusels, Belgium. International Dairy Federation.*

INDECOPI. (2004). *Norma Técnica Peruana (NTP) 202.195:2004. Leche y Productos Lácteos. Queso fresco. Requisitos.*

INEI. (2012). Perú: Consumo Per Cápita de los Principales Alimentos 2008 - 2009. In *Instituto Nacional de Estadística e Informática*.

ISO. (1975). *Cheese - Determination of fat content - van Gulik method. ISO Standard 3433*. International Standards Organizations.

Kongo, J. M., & Malcata, F. X. (2015). Cheese: Chemistry and Microbiology. In *Encyclopedia of Food and Health* (1st ed.). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00135-5

Kopper, G., Calderón, G., Schneider, S., Domínguez, W., Gutiérrez, G., & FAO. (2009). Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. In *Informe Técnico sobre Ingeniería Agrícola y Alimentaria*. http://www.fao.org/3/a-i0480s.pdf

Kwak, H. S., Ganesan, P., & Hong, Y. H. (2011). Nutritional benefits in cheese. *Cheese: Types, Nutrition and Consumption*, *25*(December 2012), 267–288.

Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). *Sensory Ecaluation of Food* (2d. Ed.). https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6488-5_16

Lebrero, E. A., Baviera, J. M. B., Moreno, P. C., Riba, R. E., Pérez, M. A. F., Pérez, G. F., Arnau, S. G., de la Torre, A. H., Gallego, Á. J., Sánchez, A. M., del Moral, A. M., Belloso, O. M., Caballero, M. A., Gómez, A. P., Martínez, G. P., Cañavate, J. L. R., Berruezo, G. R., Buelga, J. S., & Tur Marí, J. A. (2015). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo , Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) sobre los riesgos mi- crobiológicos asociados al consumo de leche cruda y productos lác- teos elaborados a base de leche cruda. *Revista Del Comité Científico N° 21*.

Lucey, J. A. (2011). Curd Syneresis. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 591–592). Elsevier Ltd.

MacCarthy, A. L., O'Connor, T. P., & O'Brien, N. M. (2013). Cheese in the context of diet and nutrition. In V. R. Preedy, R. R. Watson, & V. B. Patel (Eds.), *Handbook of chese in health* (n° 6, pp. 15–26). Wageningen Academic P u b l i s h e r s.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2015). *Brock. Biología de los Microorganismos* (Pearson (ed.); 14a. edici).

Marcial, G. E., Gerez, C. L., De Kairuz, M. N., Araoz, V. C., Schuff, C., & De Valdez, G. F. (2016). Influencia del aceite esencial de orégano en la elaboración tradicional de quesos: Efecto sobre el fermento láctico. *Revista Argentina de Microbiologia*, *48*(3), 229–235. https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.04.006

Mayta-hancco, J., Trujillo, A., Zamora, A., & Juan, B. (2019). Effect of ultra-high pressure homogenisation of cream on the physicochemical and sensorial characteristics of fat-reduced starter-free fresh cheeses. *LWT - Food Science and Technology*, *110*(August 2018), 292–298. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.04.096

Mcmahon, D. J., Fife, R. L., & Oberg, C. J. (1999). Water Partitioning in Mozzarella Cheese and Its Relationship to Cheese Meltability. *Journal of Dairy Science*, *82*(7), 1361–1369. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75361-0

MIDAGRI. (2021). *Producción Agroindustrial Alimentaria 2020*. https://siea.midagri.gob.pe/portal/publicaciones/datos-estadisticas/anuarios/category/32-produccion-agroindustrial

MINAGRI. (2017). *Decreto Supremo que aprueba el Reglamento de la Leche y Productos Lácteos. D.S. N° 007-2017-MINAGRI*.

NTS N° 071-Minsa/Digesa-V.01. “Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano,” 23 (2008).

Molloy, E. M., Hill, C., Cotter, P. D., & Ross, R. P. (2011). Bacteriocins. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (2nd ed., pp. 420–429). Elsevier Ltd.

Monroy, D. M. del C., Castro, B. T., Fernández, P. F. J., & Mayorga, L. R. (2009). Revisión bibliográfica : Bacteriocinas producidas por bacterias probióticas. *ContactoS*, 63–72.

Monroy, M. del C., Castro, T., Fernández, F., & Mayorga, L. (2009). *Revisión bibliográfica: Bacteriocinas producidas por bacterias probióticas*. 63–72.

Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2014). *Microbiología médica* (7a. ed.). Elsevier.

Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2017). *Microbiologia médica* (8ª ed.). Elsevier.

O’Brien, N., & O’Connor, T. (2004). *Aspectos nutricionales del queso: en queso, química, física y microbiología* (3ra Ed).

O’Callaghan, Y. C., O’Connor, T. P., & O’Brien, N. M. (2017). Nutritional Aspects of Cheese. In Patrick F. Fox, T. P. Guinee, T. M. Cogan, & P. L. H. McSweeney (Eds.), *Fundamentals of Cheese Science, Second Edition* (second edi, pp. 1–799). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9

Parodi, P. W. (2004). Milk fat in human nutrition. *Australian Journal of Dairy Technology*, *59*(1), 3–59.

Puerta-García, A., & Mateos-Rodríguez, F. (2010). Enterobacterias. *Medicine*, *10*(51), 3426–3431. https://doi.org/10.1016/S0304-5412(10)70056-1

Punyauppa-path, S., Phumkhachorn, P., & Rattanachaikunsopon, P. (2015). Nisin: Production and mechanism of antimicrobial action. *International Journal of Current Research and Review*, *7*(2), 47–53.

Recker, R. R., Bammi, A., Barger-Lux, M., & Heaney, R. P. (1988). Calcium absorbability from milk products, an imitation milk and calcium carbonate. *American Journal of Clinical Nutrition*, *47*(1), 93–95. https://doi.org/10.1093/ajcn/47.1.93

Renner, E. (1993). Nutritional Aspects of Cheese. In P F Fox (Ed.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (second edi, p. 557). Chapman and Hall.

Revilla, J. (2009). *Tirotecnia artesanal (quesos)*.

Rodriguez-Garcia, I., Silva-Espinoza, B. A., Ortega-Ramirez, L. A., Leyva, J. M., Siddiqui, M. W., Cruz-Valenzuela, M. R., Gonzalez-Aguilar, G. A., & Ayala-Zavala, J. F. (2016). Oregano Essential Oil as an Antimicrobial and Antioxidant Additive in Food Products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *56*(10), 1717–1727. https://doi.org/10.1080/10408398.2013.800832

Schulz-Collins, D., & Senge, B. (2004). Acid- and acid/rennet-curd cheeses part A: Quark, cream cheese and related varieties. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, *2*(C), 301–328. https://doi.org/10.1016/S1874-558X(04)80049-6

Shi, C., Zhang, X., Zhao, X., Meng, R., Liu, Z., Chen, X., & Guo, N. (2017). Synergistic interactions of nisin in combination with cinnamaldehyde against Staphylococcus aureus in pasteurized milk. *Food Control*, *71*, 10–16.

https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.06.020

Sieber, R., Rehberger, B. S., & Walther, B. (2011). *Removal of Cholesterol from Dairy Products* (second edi, pp. 734–740). Elsevier Ltd.

Soares, P. M., Fernandes, de C. A., Dos Santos, P. A. C., Campos, S. A. A., Fonseca, da S. P. H., Sobral, D., Jacinto, de P. J. C., & de Lima, S. A. (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. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.08.001

Varnam, A. H., & Sutherland, J. P. (1994). *MILK and Milk Products: Technology chemistry and microbiology* (A. H. Varnam & J. P. Sutherland (eds.)). Chapman and Hall.

Vásquez, V. A., Gerardo, J. G., Jiménez, L. A., & Abanto, L. M. (2018). Evaluación De La Calidad Bacteriológica De Quesos Frescos En Cajamarca Evaluation of the Bacteriological Quality of Fresh Cheeses From Cajamarca. *Ecología Aplicada*, *17*(1), 45–51. https://doi.org/10.21704/rea.v17i1.1172

Walstra, P., Wouters, J., & Geurts, T. (2006). *Dairy Science and Technology* (2nd. Ed.). CRC/Taylor & Francis.

Walther, B., Schmid, A., Sieber, R., & Wehrmüller, K. (2008). Cheese in nutrition and health. *Dairy Science and Technology*, *88*, 389–405.

Wiedemann, I., Breukink, E., Van Kraaij, C., Kuipers, O. P., Bierbaum, G., De Kruijff, B., & Sahl, H. G. (2001). Specific binding of nisin to the peptidoglycan precursor lipid II combines pore formation and inhibition of cell wall biosynthesis for potent antibiotic activity. *Journal of Biological Chemistry*, *276*(3), 1772–1779. https://doi.org/10.1074/jbc.M006770200

Zamora, A., Ferragut, V., Quevedo, J. M., Guamis, B., & Trujillo, A. (2012). Ultra-high pressure homogenisation of milk : technological aspects of cheese-making and microbial shelf life of a starter-free fresh cheese. *Journal of Dairy Research*, 168–175. https://doi.org/10.1017/S0022029912000052

ANEXOS

ANEXO 1. FICHA DE EVALUACIÓN SENSORIAL DE QUESO FRESCO

Nombre del catador: _____ Fecha: ___/___/_____

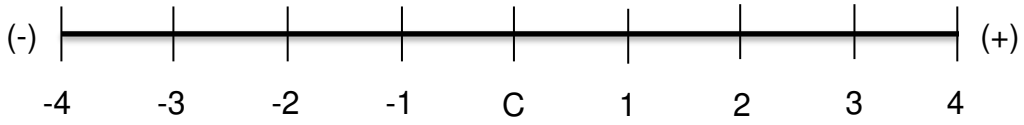
Cátese atentamente las muestras de queso y señálese la valoración que se considere para cada carácter (comprobando con la muestra control).

Para la notación de cada atributo, la siguiente escala de la magnitud de la desviación (nota hacia la parte positiva o negativa de la escala según es mayor o menor la desviación apreciada respecto a la muestra C):

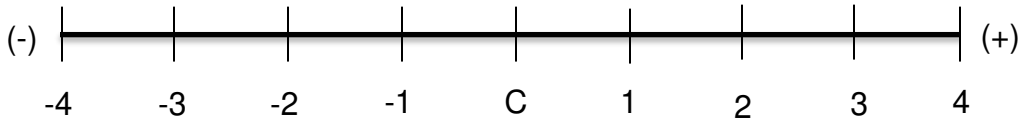
Puntos:

C	Desviación no apreciable respecto al Control.
-1 y 1	Desviación mínima respecto al Control.
-2 y 2	Desviación notable respecto al control.
-3 y 3	Desviación considerable con respecto al Control.
-4 y 4	Desviación muy considerable respecto al Control.

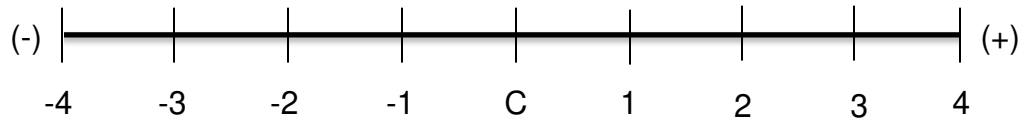
Textura (dureza)



Sensación acuosa



Aroma (intensidad)



Aceptación

En la siguiente escala de puntuación marque con el código asociado a cada queso el comentario que mejor describe la muestra que ha probado. Tenga presente que usted es el juez y el único que puede decir lo que le gusta. Nadie sabe si éste alimento debe ser considerado bueno, malo o indiferente. La sincera expresión de su valoración personal nos ayudará a decidir.

En el cuadro en blanco escriba el código del queso:

	Me gusta muchísimo	9
	Me gusta mucho	8
	Me gusta moderadamente	7
	Me gusta ligeramente	6
	Ni me gusta ni me disgusta	5
	Me desagrada ligeramente	4
	Me desagrada moderadamente	3
	Me desagrada mucho	2
	Me desagrada muchísimo	1

Describa cuáles son los aspectos (atributos o parámetros) más y menos valorados de cada tipo de queso:

Código del queso	**Aspectos mejores**	**Aspectos peores**

ANEXO 2. GALERÍA FOTOGRÁFICA

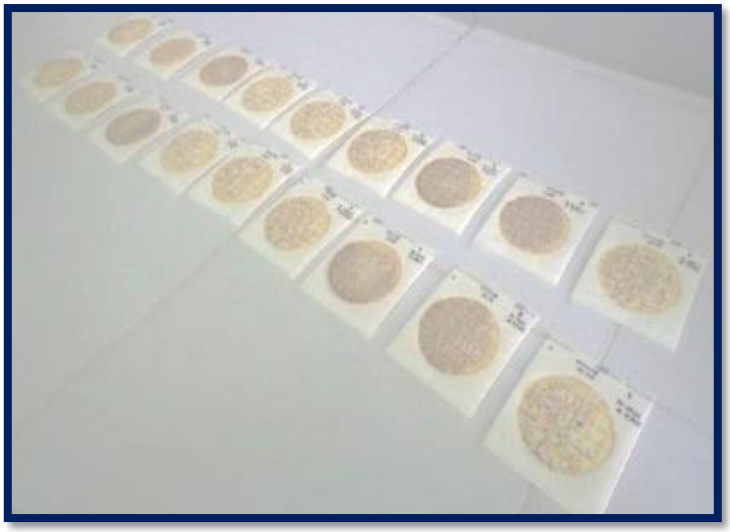


Foto 1. Vista panorámica de Petrifilms con colonias de *S aureus* de muestras de leche.

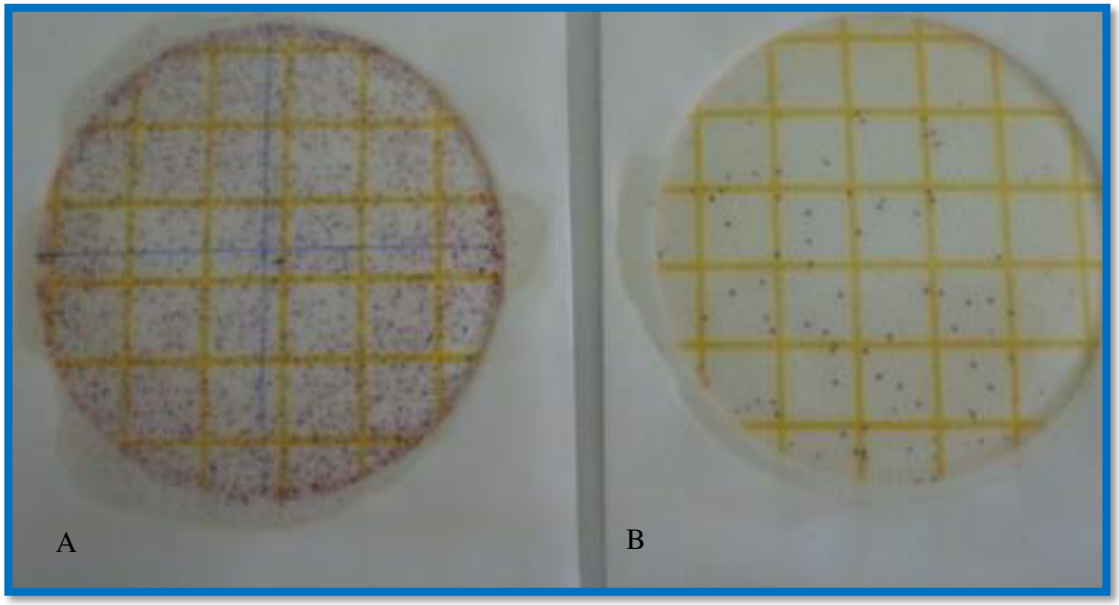


Foto 2. Colonias de *S. aureus* en leche sin adición de nisina ni AEO (A) y con adición de 500 UI/mL de nisina (B).

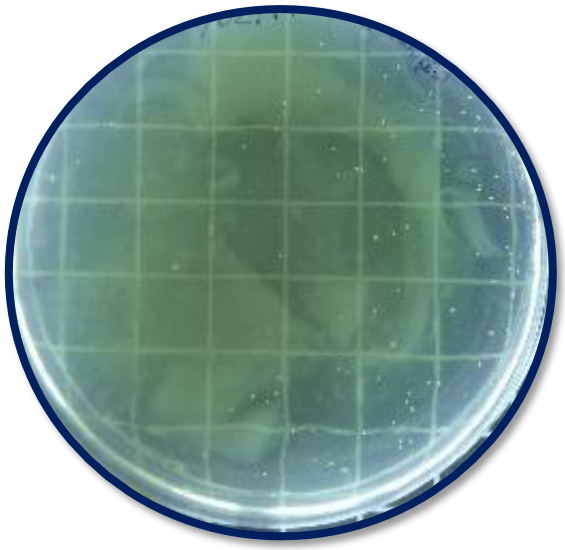


Foto 3. Colonias de aerobios mesófilos de muestras de queso fresco.

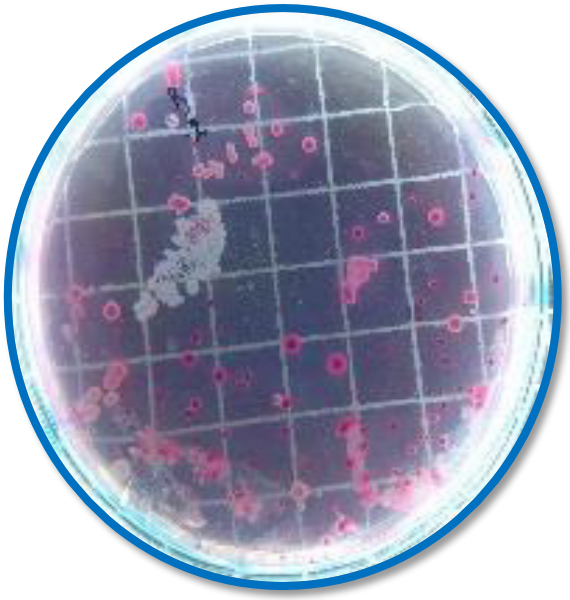


Foto 4. Colonias de enterobacterias de muestras de queso fresco.

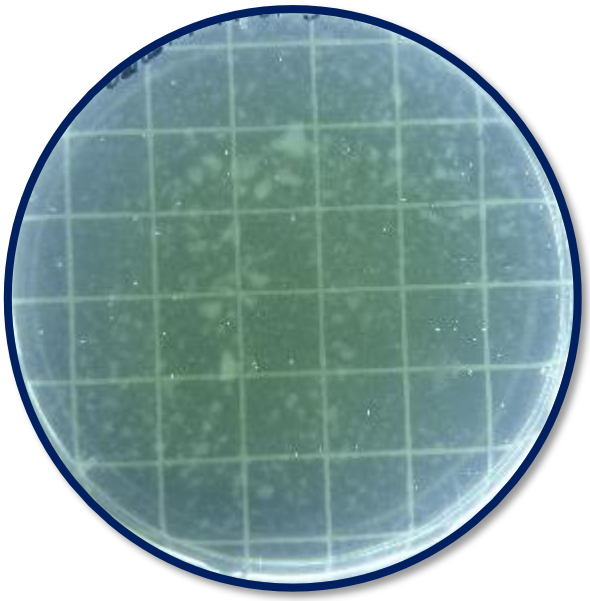


Foto 5. Colonias de de esporas de muestras de queso fresco.



Foto 6. Consumidores evaluando la calidad sensorial de quesos frescos.

ANEXO 3. ARCHIVO DE DATOS

Tabla A. Resultados del recuentos de *S. aureus* en leche pasteurizada con diferentes concentraciones de nisina y AEO.

Tratamiento	AEO (%)	Nisina (UI/mL)	*S. aureus* (Log ufc/mL)			
			r1	r2	r3	r4
1(Control)	0	0	3.59	3.48	Nd	Nd
2	0.0025	0	3.41	3.45	3.21	3.19
3	0.005	0	3.36	3.42	Nd	Nd
4	0	250	2.51	2.46	1.91	1.91
5	0.0025	250	2.66	2.67	Nd	Nd
6	0.005	250	2.75	2.72	Nd	Nd
7	0	500	2.27	2.32	1.45	1.49
8	0.0025	500	2.5	2.45	2.35	2.34
9	0.005	500	2.59	2.59	2.06	2.05

r: réplica

Nd. No determinado

Tabla B. Resultados del análisis fisicoquímico de quesos frescos elaborados a partir de leche con adición de nisina y AEO durante el almacenamiento.

	Queso	Nisina (UI/mL)	AEO (%)	Almacenamiento (día)								
				0			4			8		
				r1	r2	r3	r1	r2	r3	r1	r2	r3
Grasa	Q0	0	0	16.20	16.50	15.90	16.50	17.50	16.50	17.00	18.00	17.50
(%)	Q1	500	0.0025	16.70	16.50	15.50	17.00	18.00	16.90	17.60	18.00	17.80
	Q2	500	0	16.50	16.25	15.70	16.50	17.50	16.50	17.00	18.50	17.50
	Q0	0	0	6.60	6.79	6.28	6.68	6.87	6.49	6.80	6.98	6.46
pH	Q1	500	0.0025	6.64	6.77	6.36	6.59	6.81	6.45	6.70	6.85	6.59
	Q2	500	0	6.60	6.56	6.31	6.70	6.69	6.31	6.80	6.91	6.52
Sólidos	Q0	0	0	35.94	35.09	35.21	37.04	36.49	37.70	38.24	36.96	37.92
totales (g/100g de	Q1	500	0.0025	35.34	36.38	37.13	36.91	36.80	37.78	38.22	37.26	38.40
queso)	Q2	500	0	35.75	34.47	35.54	35.95	36.99	37.20	37.25	37.06	38.93

r: réplica

Tabla C. Resultados del análisis microbiológico de quesos frescos elaborados a partir de leche con adición de nisina y AEO durante el almacenamiento.

Grupo microbiano	Queso	Nisina (UI/mL)	AEO (%)	Almacenamiento (día)								
				0			4			8		
				r1	r2	r3	r1	r2	r3	r1	r2	r3
Aerobios mesófilos	Q0	0	0	3.00	4.72	3.41	4.55	5.05	3.87	4.66	5.07	4.35
	Q1	500	0.0025	2.45	2.54	2.50	3.20	2.88	2.95	3.22	2.90	2.95
	Q2	500	0	1.90	2.15	2.00	2.90	2.65	2.80	3.00	2.80	3.15
Enterobacterias	Q0	0	0	Nd	Nd	Nd	3.41	3.26	Nd	4.32	3.30	3.00
	Q1	500	0.0025	Nd	Nd	Nd	Nd	1.77	Nd	3.79	3.00	2.90
	Q2	500	0	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	2.00	3.65	2.15	2.25
Esporas	Q0	0	0	Nd	Nd	2.00	2.65	2.93	3.23	4.00	4.06	5.43
	Q1	500	0.0025	Nd	Nd	1.5	Nd	2.54	3.38	Nd	3.04	4.14
	Q2	500	0	Nd	Nd	Nd	Nd	2.80	3.35	Nd	2.95	3.90

Nd: no detectado.
r: réplica

Tabla D. Resultados del análisis sensorial: prueba descriptiva de quesos frescos.

Queso	Consumidor	Atributos					
		Textura	Sensación Acuosa	Aroma	Textura	Sensación Acuosa	Aroma
Q1	1	4	-2	4	-1	3	4
	2	2	3	-1	-2	-2	2
	3	-1	1	-2	1	1	1
	4	3	-3	3	1	-2	4
	5	0	0	2	-1	-1	1
	6	1	0	3	1	0	2
	7	2	2	3	-1	2	3
	8	0	-1	1	2	-1	1
	1	3	-1	3	1	2	3
	2	-1	1	-2	1	-1	2
	3	1	2	2	2	1	2
	4	1	-1	4	0	0	3
	5	1	0	3	1	1	2
	6	2	2	2	-3	-3	3
	7	-2	-2	-1	1	1	2
	8	4	1	3	1	0	-1
	1	2	1	2	1	1	3
	2	1	-1	-1	-1	1	1
	3	-2	-1	1	1	-1	1
	4	0	1	-3	0	-1	-3
	5	-1	1	1	0	0	1
	6	-2	-1	-1	1	0	1
	7	0	1	3	0	1	3
	8	1	1	3	-1	-2	3
Q2	1	3	2	1	2	3	1
	2	3	2	2	2	2	1
	3	2	-2	1	1	2	3
	4	1	4	2	3	2	1
	5	2	2	1	3	3	0
	6	1	0	1	2	-1	0
	7	3	2	2	2	-2	1
	8	1	1	3	3	2	2
	1	2	1	0	0	0	0
	2	1	2	1	1	1	1
	3	-1	0	-1	0	0	-1
	4	1	2	0	1	0	0
	5	2	2	2	1	1	0
	6	1	1	0	0	0	0
	7	0	0	1	1	1	1
	8	3	2	-3	-1	2	1
	1	1	1	0	0	0	0
	2	1	1	1	1	0	1
	3	0	1	0	0	0	0
	4	1	1	1	1	1	1
	5	0	1	0	0	0	0
	6	-1	-2	0	0	0	0
	7	1	-1	-1	-1	2	-2
	8	1	0	0	2	2	-1

Tabla E. Resultados del análisis sensorial: apreciación de quesos frescos.

Consumidor	Q0	Q1	Q2	Q0	Q1	Q2
1	6	6	7	8	4	8
2	6	4	7	3	7	6
3	8	3	6	7	7	6
4	5	8	7	5	6	7
5	5	4	8	7	4	9
6	5	8	6	6	5	7
7	8	7	6	5	3	7
8	7	3	8	8	7	8
1	8	7	8	8	6	7
2	5	7	6	6	4	5
3	9	4	8	8	6	9
4	8	3	7	7	4	7
5	6	6	7	5	7	6
6	6	7	6	6	4	6
7	9	4	7	5	6	7
8	5	6	3	7	4	6
1	9	7	8	8	7	9
2	6	5	7	5	6	7
3	8	5	9	9	7	8
4	7	3	8	8	3	7
5	5	6	6	5	6	7
6	9	7	8	5	7	8
7	6	5	7	7	9	6
8	5	7	6	6	8	7

"UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA"

DIRECCIÓN DE GESTIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

FORMULARIO DE AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA PARA TESIS Y TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL AL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DIGITAL DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E INNOVACIÓN DEL ACCESO ABIERTO DE LA UNAM

VICEPRESIDENCIA DE INVESTIGACIÓN

Formulario de autorización para la publicación electrónica en la página web del Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de Moquegua, de conformidad con el Decreto Legislativo N° 822, sobre la Ley de los Derechos de Autor, Ley N° 30035 del Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto de la UNAM aprobada mediante la Resolución de C.O. N° 0158-2016-UNAM.

1. DATOS PERSONALES DEL AUTOR

Apellidos y Nombres:	Cama Curasi John Victor
D.N.I.:	40207351
Otro Documento:	Ninguno
Nacionalidad:	Peruano
Teléfono/Celular:	953982038
e-mail:	johnvcamac@gmail.com

2. DATOS ACADÉMICOS

Escuela Profesional:	Ingeniería Agroindustrial
Grado Académico otorgado:	Bachiller en Ingeniería Agroindurtrial
Título Profesional otorgado:	Ingeniero Agroindustrial
Tesis / Trabajo de Suficiencia Profesional (Pregrado y/o Postgrado):	Tesis
Modalidad de Titulación:	Tesis

3. DATOS DE LA TESIS

Título de la tesis / Trabajo de Suficiencia Profesional:	Eficacia de la combinación de nisina y aceite esencial de orégano frente al Staphylococcus aureus en leche y en la calidad fisicoquímica, microbiológica y sensorial del queso fresco
Fecha de Sustentación:	24 de noviembre del 2021
Calificación:	15
Año de Publicación:	2021

4. DATOS DEL ASESOR

Apellidos y Nombres:	Mayta Hancco Jhony
D.N.I.:	01325181
Otro Documento:	Ninguno
Nacionalidad:	Peruano
Teléfono / Celular:	924517445
e-mail:	jmaytah@unam.edu.pe

5. AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN VERSIÓN ELECTRÓNICA

A través de la presente, autorizo la publicación del texto completo de la tesis o Trabajo de Suficiencia Profesional, en el Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de Moquegua para su explotación no exclusiva, ilimitada, perpetua y con alcance mundial, a favor de la Universidad Nacional de Moquegua.

Según el Reglamento de la Ley Nº 30035, Ley que regula el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto DECRETO SUPREMO N° 006-2015-PCM "TÍTULO IV GESTIÓN DE LA PROPIEDAD INTELECTUAL Y DE LOS DATOS PERSONALES; *Artículo 10º.- De los Derechos: Esta cesión de derechos comprende, mas no se limita, a los derechos de reproducción, comunicación al público, distribución, traducción, adaptación, arreglo, edición, modificación, cambio de formato u otra transformación, importación al territorio nacional de copias por cualquier medio incluyendo la transmisión, así como cualquier otra forma de utilización de las obras, datos procesados y estadísticas de monitoreo que no estén contempladas en la ley de la materia como excepción al derecho patrimonial y, en general, para cualquier tipo de utilización y explotación, que la entidad estime pertinentes, en cualquier forma o procedimiento, conocido o por conocerse, pudiendo poner a disposición las obras, datos procesados y estadísticas de monitoreo por medio de autorizaciones o licencias a favor del público en general."*

Sin perjuicio de otras obligaciones a su cargo, EL AUTOR deberá entregar una versión digital final de la TESIS sin ninguna medida tecnológica efectiva ni sistema de auto tutela, sin contraseña ni restricción, de acuerdo con los lineamientos establecidos por el Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC) en relación con el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto. Cuando las obras contengan en parte o consistan en programas de ordenador o software, además deberá entregar el código fuente, código objeto, documentación técnica y manuales. Lo dispuesto en relación con los programas de ordenador no se aplicará cuando la entidad pública sea sólo licenciataria del software.

Para facilitar la divulgación y alcance nacional e internacional de los resultados de las investigaciones en materia de ciencia, tecnología e innovación contenidos en los repositorios institucionales y en el Repositorio Nacional Digital, se autoriza la traducción automática a otros idiomas y dialectos por medio de programas de ordenador de las obras, datos procesados y estadísticas de monitoreo, así como de los metadatos de los mismos. En caso de ser fijadas o reproducidas, se deberá incluir expresamente que se trata de traducciones hechas por medios informáticos, con fines ilustrativos o referenciales.

Firma y huella digital: _____



Fecha de autorización: 16 de diciembre del 2021