

Capítulo LXXVIII

Biopreservación: alternativa para mejorar la calidad de los quesos

Gustavo Castro Albornoz, MSc
Emiro Valbuena Colmenares, MSc

INTRODUCCIÓN

Las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) son de gran interés en la salud pública, debido a que cuando ocurren, se ven afectadas muchas personas a la vez. Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS), en Venezuela la principal ETA es la intoxicación estafilocócica, la cual es causada por toxinas producidas por algunas cepas de *Staphylococcus aureus*, siendo los alimentos lácteos y específicamente los quesos, los catalogados como principales responsables (Ríos y Novoa, 1999). Esto puede explicarse en parte si se considera que la calidad higiénica de los mismos tiende a ser pobre, caracterizándose por la presencia de bacterias patógenas como las del grupo coliformes, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* y sus toxinas (Miró y Ríos, 1999). Se ha demostrado que menos de 1 g de toxina estafilocócica es suficiente para que ocurra la enfermedad (CFSAN, 1998).

Según la Cámara Venezolana de la Industria Láctea (CAVILAC, 2006) aproximadamente la mitad de la producción de quesos en el país se elaboran de manera artesanal o semi-industrial, para lo cual generalmente se emplea leche cruda, muchas veces obtenida bajo condiciones de ordeño poco higiénico, dada las condiciones de manejo en la cual se da la producción lechera en la mayor parte de las unidades agropecuarias nacionales. Esa elaboración artesanal se encuentra tanto en pequeñas plantas como en las mismas unidades de explotación bovina, originando lo que se conoce en Venezuela como queso de matera. A nivel semi-industrial, aunque se cuente con tecnologías que mejoren la productividad, existen muchas fallas en el manejo sanitario durante la producción, en parte quizás debido a la escasa formación técnica del personal que labora en este tipo de planta. De allí, que no sorprenda que en nuestro país sean los productos lácteos, específicamente los quesos blancos, los involucrados en la mayoría de los casos de ETA.

Ante esta situación, resulta obvio que una medida eficaz para disminuir los casos de esta enfermedad sería la prohibición de la comercialización de quesos elaborados con leche cruda, implementándose la pasteurización como requisito obligatorio, tal como esta establecido en la norma COVENIN N° 3821-2003; sin embargo, existen en nuestra sociedad, diferentes obstáculos económicos, políticos y culturales, que impedirían, al menos por el momento, la implementación de dichas medidas. Además, la pasteurización por si sola no representa la solución a los casos de intoxicación estafilocócica, ya que el proceso logra destruir al *Staphylococcus aureus*, pero no a la toxina causante de la enfermedad. Es por ello, que la solución debe abarcar incluso las condiciones higiénico-sanitarias durante el ordeño y manejo de la leche antes del procesamiento.

Se debe tener en cuenta además, que este microorganismo se puede encontrar en el agua, suelo, polvo, aire, leche, alimentos o equipos empleados en la elaboración de alimentos, en la piel, boca o garganta y heridas de animales y humanos, siendo estos últimos considerados los principales reservorios; también se puede encontrar en los tejidos y mucosas de un 50% o más de individuos saludables (CFSAN, 1998). En consecuencia, si se tiene un manejo poco cuidadoso de los productos terminados o la falta de buenas practicas de fabricación, existe la posibilidad de que los quesos se contaminen con este patógeno y con ello el riesgo de producir ETA. Se debe tomar en cuenta además, que en alimentos procesados, al haberse reducido la flora total, cualquier microorganismo contaminante tiene mayor posibilidad de desarrollarse sin competencia microbiana. De allí la importancia de tener en cuenta las medidas sanitarias para la manipulación de los alimentos durante los procedimientos post-pasteurización.

Una alternativa que surge para mejorar la calidad microbiológica de los quesos, es el empleo de preservativos biológicos o biopreservadores, más aún, cuando la utilización de los preservativos químicos esta limitada por las normativas vigentes, aunado al interés de los consumidores por obtener una mayor variedad de alimentos seguros y naturales; por ello se entiende, aquellos alimentos elaborados con estricto control de calidad sanitaria y sin la adición de aditivos artificiales (Devlieghere *et al.*, 2004). Los biopreservadores llaman la atención por su efectividad para hacer alimentos seguros y reducir la cantidad de ingredientes como sal, azúcar y ácidos que usualmente sirven como factores para inhibir el crecimiento microbiano (Lucke *et al.*, 1994, Shillinger *et al.*, 1997).

BIOPRESERVACIÓN

Por lo general los productos lácteos se preservan por medio de procedimientos físicos como la aplicación de calor, refrigeración, congelación, deshidratación, secado, etc. En los quesos además, se emplean algunos preservativos químicos como la sal, ácidos orgánicos y nitritos. La interacción competitiva de las bacterias es bien conocida, un ejemplo típico son las fermentaciones naturales y controladas, fundamento de la conservación de los alimentos utilizando microorganismos (Silla, 1985).

Como biopreservación se entiende el uso de microorganismos antagonistas o sus metabolitos, para inhibir o destruir los microorganismos indeseables en alimentos (Shillinger *et al.*, 1996). Los microorganismos que con mayor frecuencia se utili-

zan en la fermentación de los alimentos son las Bacterias Ácido Lácticas (BAL), las levaduras y mohos (Silla, 1985).

Desde la antigüedad se aprovechaba el potencial de las BAL por su capacidad para aportar caracteres organolépticos deseables a los productos lácteos (queso, mantequilla, yogurt, crema), a la vez que los hacían perdurables, aunque para ese tiempo no se tenía certeza a que mecanismos se debían estos efectos positivos (Castro, 2007). Con el pasar del tiempo se han estudiado dichos mecanismos, pudiéndose identificar diversos metabolitos, entre ellos las bacteriocinas, compuestos de naturaleza proteica que presentan capacidad inhibitoria del crecimiento bacteriano. El empleo de bacteriocinas producidas por ciertas cepas de BAL y el uso de cultivos bacterianos para lograr antagonismo por medio de la competencia por nutrientes son algunas de las técnicas de biopreservación utilizadas en la actualidad en la industria de los alimentos (Schillinger *et al.*, 1996; Devlieghere *et al.*, 2004).

Se pueden describir dos tipos de cultivos, los iniciadores utilizados con frecuencia en la elaboración de productos lácteos fermentados, que sirven para iniciar procesos metabólicos deseados y cambios sensoriales en los alimentos y los cultivos protectores que se emplean con el objetivo principal de lograr preservación, inhibiendo microorganismos patógenos y otros indeseables responsables de la alteración y putrefacción de los alimentos, aunque sin alterar la calidad sensorial del producto (Devlieghere *et al.*, 2004). Algunos microorganismos pueden ser utilizados como cultivos iniciadores, presentando además efecto protector, este es el caso de cepas de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* capaces de producir bacteriocinas, tal como la nisina (Silla, 1985; Schillinger *et al.*, 1996; González *et al.*, 2007).

Algunas de las ventajas que presenta el uso de los cultivos microbianos en alimentos, tanto para la industria como para el consumidor son, la eliminación de la incidencia de defectos causados por microorganismos indeseables, se evita el desarrollo de microorganismos patógenos y de sus toxinas, otorgan una calidad uniforme al producto y eliminan defectos de fabricación, como sucede con la flora natural. Además se evitan pérdidas económicas debido al desarrollo incontrolado de aromas, sabores y texturas, se reduce el tiempo de fabricación, ya que no hay que esperar que proliferen la flora natural espontáneamente y se ahorra en equipos, mano de obra, espacio, tiempo y energía (Silla, 1985).

Además de la producción de compuestos antimicrobianos (bacteriocinas), la actividad biopreservadora de las BAL es ejercida también como resultado de la competencia por nutrientes, por su capacidad de producir ácido láctico y otros ácidos orgánicos que disminuyen el pH de los alimentos, inhibiendo así el crecimiento de bacterias patógenas, que por lo general, necesitan de pH más elevados para crecer. También producen peróxido de hidrógeno, al cual no pueden desdoblar por carecer de la enzima catalasa. El peróxido de hidrógeno inhibe el crecimiento de bacterias como *Pseudomonas*, *Staphylococcus* y *Salmonella*. El efecto inhibitorio no puede ser explicado completamente basándose en solo uno de los mecanismos señalados anteriormente, sino como el resultado de la interacción de más de uno de ellos: pH bajo, ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, bacteriocinas y competencia por los nutrientes (Silla, 1985; González *et al.*, 2007).

Son múltiples los ejemplos de la aplicación de BAL para lograr la preservación de los alimentos. Castro (2007) evaluó la utilización de cultivos de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* productor de nisina en la elaboración de queso blanco. Los resultados obtenidos demostraron que el cultivo permitió obtener quesos con buena calidad microbiológica, en relación con el contenido de bacterias coliformes y *Staphylococcus aureus*. Sin embargo, no logró inhibir el crecimiento de los *Staphylococcus* cuando fueron inoculados a la leche a una población de 10^3 ufc/mL. Resultados similares fueron descritos por Hamama *et al.* (2002) trabajando con cultivos de *Lactococcus lactis* productores de nisina en queso Jben, un queso griego tradicional elaborado con leche cruda. Se demostró el poder inhibitorio del *Lactococcus*, efecto que estuvo favorecido por la alta acidez encontrada en los quesos, gracias a la capacidad fermentadora del cultivo utilizado. Sin embargo, cuando el patógeno inoculado alcanzó la población de 10^5 ufc/g, el efecto inhibitorio no resultó suficiente.

Rodríguez *et al.* (2005) encontraron un efecto inhibitorio de cepas de *Lactococcus lactis* productores de pediocina y nisina sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* en quesos madurados elaborados a partir de leche pasteurizada. Además reportaron que los cultivos utilizados fueron capaces de producir bacteriocinas a lo largo del periodo de maduración de los quesos.

Por otra parte, se han realizado diversos estudios con el fin de evaluar cepas autóctonas productoras de bacteriocinas, aisladas de productos lácteos elaborados sin ningún cultivo comercial adicionado (Salina, 2001; Topisirovic *et al.*, 2006; González *et al.*, 2007). Los cultivos autóctonos tienen la ventaja de lograr una mejor adaptación y propagación al compararlos con las cepas comerciales. El empleo de estos cultivos no siempre ofrecen resultados satisfactorios, ya que se debe tener en cuenta que es común que las bacterias pierdan la capacidad bacteriocinogénicas entre generaciones de poblaciones (Devlieghere *et al.*, 2004).

Un ejemplo de la utilización de bacterias autóctonas, se encuentra en el estudio realizado por Salinas (2001) quien elaboró quesos blancos empleando cultivos iniciadores de *Enterococcus faecalis* productores de bacteriocinas aislados de queso palmita. Encontró alta efectividad del cultivo iniciador en inhibir el crecimiento de *Listeria monocytogenes*, además de obtener agradables características organolépticas. Por otro lado, los quesos elaborados tuvieron parámetros microbiológicos dentro de lo establecido por regulación legal, relacionado con el conteo de bacterias coliformes y *Staphylococcus aureus*. González *et al.* (2007) aislaron 395 cepas de bacterias ácido lácticas a partir de muestras de queso Genestoso durante la fase de maduración, encontrando que algunas presentaron actividad antimicrobiana frente a microorganismos como *Staphylococcus aureus*, ejercida por la producción de bacteriocinas.

El empleo de cultivos para la conservación de la leche también ha sido ensayado por Guinot *et al.* (1995). Estos autores evaluaron el efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la composición de la leche cruda utilizando como tratamientos el almacenamiento a temperaturas de 4°C y 8°C por 48 horas seguido de una inoculación con 0,5% de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. Las muestras fueron contaminadas con dos niveles de bacterias psicrotrofas ($4,0 \times 10^3$ y $2,8 \times 10^4$ ufc/mL). En el estudio se realizaron análisis físico-químicos y microbiológicos antes y después de los tratamientos, observando que las leches con baja carga bacteriana almacenadas a 4°C por 48 h se

conservaron sin ningún cambio físico-químico y presentaron bajo crecimiento de la flora psicrotrofa, mientras que en la leche que tenía una mayor carga, esta se incrementó durante el almacenamiento. Las muestras con baja carga bacteriana, almacenadas a 8°C por 48 h y con posterior inoculación con la bacteria láctica, presentó mejores parámetros microbiológicos sin cambios físico-químicos que aquellas muestras no inoculadas. Estos autores demostraron que la adición de la bacteria láctica en leche con baja carga bacteriana, inhibió el crecimiento de la flora psicrotrofa, aunque este tratamiento no fue efectivo cuando la contaminación inicial fue elevada. Sin embargo, hay que tomar en cuenta que el empleo de los cultivos involucra un proceso de fermentación, del cual se originan cambios en las características físico-químicas y organolépticas del alimento inoculado. Por ello cuando no se desee el proceso fermentativo, deberán usarse los compuestos biológicos en forma separada para alcanzar la preservación.

BACTERIOCINAS

Las bacteriocinas tienen un particular interés en la industria de los alimentos por ser consideradas preservativos biológicos. Comprenden un grupo grande y diverso de proteínas o péptidos ribosomales extracelulares, con propiedades bactericidas y/o bacteriostáticas sobre bacterias cercanamente relacionadas taxonómicamente con la especie o género productor; aunque, últimamente se ha señalado la efectividad sobre bacterias aún no relacionadas taxonómicamente. Se han descrito una gran cantidad de bacteriocinas, de las cuales las producidas por BAL, son las que gozan de mayor interés. En los Cuadros 1 y 2 se presentan algunas de las bacteriocinas producidas por especies de BAL y el espectro inhibitorio de algunas de ellas sobre especies no lácticas, respectivamente.

Varias posibles estrategias para la aplicación de bacteriocinas en la preservación de alimentos han sido consideradas. Entre ellas se mencionan, la inoculación de alimentos con cultivos iniciadores o protectores que producen bacteriocinas en el producto (producción *in situ*); la adición de bacteriocinas purificadas o semi-purificadas como preservativo alimenticio; y el uso de un producto previamente fermentado con un cultivo productor de bacteriocina, como ingrediente dentro del procesamiento de un alimento.

De todas las opciones, la adición directa de bacteriocinas purificadas obviamente ofrece una herramienta mejor controlada para los productos que se consumen con baja acidez; con ellas se puede alcanzar una mejor distribución y se evitan los cambios físico-químicos y organolépticos que conllevan los procesos fermentativos. Sin embargo, el factor costo hace que esta técnica sea poco atractiva (Schillinger *et al.*, 1996). La nisina, una bacteriocina producida por algunas cepas de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, es quizás la más estudiada de todas, y es la única con aprobación por la legislación de muchos países para ser utilizada en alimentos. En 1969 fue catalogada por la FAO como aditivo seguro (Thomas *et al.*, 2000).

Muchas investigaciones han sido conducidas para evaluar la efectividad de la nisina como preservador en diversos tipos de alimentos, habiéndose demostrado la inhibición del crecimiento de bacterias patógenas como el *Staphylococcus aureus* y *Lis-*

Cuadro 1
Bacteriocinas producidas por ácido lácticas (BAL)

Especie de BAL	Bacteriocina
Bacteriocinas termoestables	
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> LMG2130	Lactococcina A
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 984	Lactococcina B
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Lactococcina M
<i>Lactobacillus acidophilus</i> 11088	Lactacina F
<i>Leuconostoc gelidium</i> VAL 187	Leucocina A
<i>Pediococcus acidilactici</i> PAC1.0	Pediocina PA-1
Bacteriocinas termodébiles	
<i>Lactobacillus helveticus</i> 481	Helvetican J
<i>Lactobacillus delbrukii</i> JCM1106	Lacticina A
<i>Lactobacillus delbrukii</i> JCM1248	Lacticina B
<i>Lactobacillus acidophilus</i> LAPT060	Acidophilucina A
<i>Lactobacillus casei</i> 880	Caseicina 80
Lantibióticos	
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 11454	Nisina A
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> NIZ022186	Nisina Z
<i>Lactobacillus sake</i> L45	Lactosina S
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> CNRZ481	Lacticina 481
<i>Carnobacterium</i> sp. V149	Carnocina U149
<i>Lactobacillus plantarum</i> LPC010	Plantaricina S
<i>Enterococcus faecium</i> Tt36	Enterocina A-Enterocina B

Fuente: Naidu *et al.*, 1999.

teria monocytogenes. Además por tener efecto sobre las esporas puede ser utilizada para la inhibición de microorganismos como *Clostridium* sp. y *Bacillus* sp. (Thomas *et al.*, 2000; Samelis *et al.*, 2003). En otro estudio, Castro (2007) evaluó la efectividad de la adición de 200 UI/g de nisina en la elaboración de queso blanco elaborado a partir de leche pasteurizada, a la cual se le inoculó *Staphylococcus aureus* a una población inicial de 10^3 ufc/mL, encontrando un efecto bactericida inmediato sobre este patógeno, evitando así su crecimiento.

Por otra parte, Kykkidou *et al.* (2007) evaluaron el efecto de la adición de nisina a muestras de quesos Genestoso sobre las características organolépticas y flora microbiana. Se demostró que la adición de nisina a dosis de 50 UI/g extendió la vida útil del queso por 7 días comparado con el control, mientras que la adición de la bacteriocina a concentraciones de 150 UI/g, prolongó la vida útil por 21 días comparado con el control.

El efecto protector de la bacteriocinas puede verse afectado por las condiciones de almacenamiento del producto final, la calidad de la materia prima, la dosis de

Cuadro 2
Espectro inhibitorio frente a microorganismos no lácticos de las bacteriocinas de BAL

Microorganismo sensible	Bacteriocina
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Sakacina A
<i>Bacillus cereus</i>	Lactocina-S, Lactostrepcin-5, Nisina, Pediocina-A, Pediocina-AcH, Sakacina-A
<i>Bacillus coagulans</i>	Nisina
<i>Bacillus licheniformis</i>	Nisina
<i>Bacillus pumilis</i>	Termofilina
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	Nisina
<i>Bacillus subtilis</i>	Lacticina-481, Nisina, Termofilina
<i>Bronchothrix thermospacta</i>	Curvacina-A, Pediocina-AcH, Sakacina-A, Sakacina-P
<i>Clostridium bif fermentans</i>	Nisina
<i>Clostridium botulinum</i>	Nisina, Pediocina-A, Reuterina, Sakacina-A
<i>Clostridium butyricum</i>	Nisina, Reuterina
<i>Clostridium perfringens</i>	Nisina, Pediocina-A, Pediocina-AcH, Pediocina-VTT, Reuterina, Termofilina
<i>Clostridium sporogenes</i>	Nisina, Pediocina-A
<i>Clostridium tyrobutyricum</i>	Lacticina-481, Lactocina-S, Pediocina-AcH
<i>Escherichia coli</i>	Reuterina, Termofilina
<i>Listeria innocua</i>	Lacticina-481, Lactocina-S, Pediocina-A, Pediocina-AcH
<i>Listeria ivanovii</i>	Pediocina-A, Pediocina-AcH, Pediocina-PAC1 O
<i>Listeria monocytogenes</i>	Carnobacteriocin A&S, Curvacina-A, Enterocin-1146, Lactacin-S, Lacticina-481, Leucocin-A, Nisina, Pediocina-A, Pediocina-AcH, Pediocina-JD, Pediocina PA-1, Pediocina-PAC10, Pediocina-VTT, Piscicolina-61, Reuterina, Sakacina-A, Sakacina-P
<i>Listeria seeligeri</i>	Pediocina-A
<i>Listeria welchii</i>	Lacticina-481, Pediocina-A
<i>Proteus mirabilis</i>	Nisina
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Termofilina
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Termofilina
<i>Salmonella enteritidis</i>	Reuterina, Termofilina
<i>Salmonella infantis</i>	Pediocina-VTT, Reuterina
<i>Salmonella typhimurium</i>	Reuterina, Termofilina
<i>Shigella sp.</i>	Reuterina, Termofilina
<i>Staphylococcus aureus</i>	Nisina, Lacticina-481, Pediocina-A, Pediocina-AcH, Plantaricin-SIK83, Sakacina-A, Termofilina
<i>Staphylococcus carnosus</i>	Curvacina, Lacticina-481, Lactocina-S, Pediocina-AcH
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Nisina
<i>Staphylococcus simulans</i>	Nisina
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Nisina
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Termofilina

Fuente: Naidu *et al.*, 1999.

la bacteriocina y la población inicial de los microorganismos patógenos que se quieran controlar. Un estudio evaluó el efecto de la adición de nisina en queso fresco “telita” sobre la supervivencia de *Staphylococcus aureus*, encontrando que esta bacteriocina fue capaz de inhibir el crecimiento del microorganismo patógeno a lo largo del almacenamiento de los quesos, aunque no logró su eliminación por completo (Cava *et al.*, 2006).

La elaboración de quesos con leche cruda en ningún caso debiera ser recomendado, ya que esto constituye un riesgo para el consumidor. Sin embargo, en un estudio conducido por Davies *et al.* (1997) se demostró que la adición de 2,5 mg/L de nisina en forma del producto comercial (Nisaplin®) lograba inhibir el crecimiento de *L. monocytogenes* por un período de hasta 8 semanas en los quesos elaborados con leche sin tratamiento térmico.

La pediocina PA-1 es otra de las bacteriocinas sobre la cual se ha realizado un gran número de estudios. Esta es producida por cepas de *Pediococcus acidilacti* y tiene una efectividad comprobada frente a un amplio espectro de bacterias Gram positivas, incluyendo *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*. Son escasos los estudios basados en su utilización como aditivo puro, y principalmente se ha estudiado el empleo de bacterias productora *in situ* (Rodríguez *et al.*, 2005).

A pesar de todos los beneficios descritos, el empleo de las bacteriocinas presenta algunos inconvenientes, su baja solubilidad en ciertos alimentos, en especial a pH elevados y la sensibilidad a ser degradada por enzimas proteolíticas (Guiotto *et al.*, 2003). Adicionalmente, no son muy efectivas frente a los microorganismos Gram negativos, los cuales son en muchos casos los responsables de la putrefacción de productos lácteos, por ser algunos de ellos psicotrofos. No obstante, algunos investigadores han encontrado efecto inhibitorio sobre este grupo de bacterias bajo ciertas condiciones (Spelhaug *et al.*, 1989; Cutter y Siragusa, 1995; Bozariar y Adams, 1999, 2001; Castro, 2007).

CONCLUSIONES

La biopreservación representa una alternativa para la industria de alimentos, permitiendo la obtención de productos libres de aditivos artificiales, pero que a la vez sean inocuos y con prolongada vida comercial. Todo ello genera beneficios tanto para la industria como para los consumidores.

El empleo de cultivos protectores, especialmente los que se caracterizan por tener la capacidad bacteriocinogénica, puede ser considerado antes que el empleo de las bacteriocinas en estado puro, debido principalmente al alto costo de estas. Sin embargo, se debe tomar en cuenta su capacidad fermentativa y los cambios físicos-químicos y organolépticos que aplican a los productos.

Una alternativa al empleo de cultivos comerciales, es el aislamiento e identificación de bacterias autóctonas, a pesar que el trabajo microbiológico para la identificación de las especies de interés, y posteriormente para lograr su conservación sin que pierdan su capacidad protectora, tiende a ser arduo y prolongado.

LITERATURA CITADA

- Boziaris I, Adams M. 1999. Effect of chelators and nisin produced in situ on inhibition and inactivation of *Gram* negatives. *Int J Food Microbiol* 53: 105-113.
- Boziaris IS, Adams MR. 2001. Temperature shock, injury and transient sensitivity to nisin in *Gram* negatives. *J Appl Microbiol* 91: 715-724.
- Cámara Venezolana de la Industria Láctea (CAVILAC). 2006. La industria lechera en Venezuela. Su evolución. Caracas, Venezuela.
- Castro G. 2007. Evaluación del efecto biopreservador del *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* en queso blanco. Trabajo de Grado. Universidad del Zulia. Facultad de Ingeniería. División de Postgrado. Maracaibo.
- Cava R, Sangronis E, Lucci E, Woyzechowsky L. 2006. Efecto de la adición de nisina en queso fresco "telita" sobre la supervivencia de *Staphylococcus aureus*. *An Venez Nutr* 19(2): 69-73.
- Center For Food Safety And Applied Nutrition (CFSAN). 1998. Food borne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins. US Food and Drug Administration. Estados Unidos. En línea: <http://www.cfsan.fda.gov/~mow/intro.html>. Accesado en Dic. 2006.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). 2003. Queso Blanco, N° 3821-2003.
- Cutter CN, Siragusa GP. 1995. Population reductions of *Gram*-negative pathogens following treatments with nisin and chelators under various conditions. *J Food Protect* 58: 977-983.
- Davies E, Bevis H, Delves-Broughton J. 1997. The use de bacteriocin, nisin, as a preservative in ricotta-type cheeses to control the food-borne pathogen *Listeria monocytogenes*. *Lett Appl Microbiol* 24(5): 343-346.
- Devlieghere F, Vermeiren L, Debevere J. 2004. New preservation technologies: Possibilities and limitations. *Int Dairy J* 14: 273-285.
- González L, Sandoval H, Sacristán N, Castro J, Fresno J, Torbadijo M. 2007. Indentification of acid bacteria isolate from Genestoso cheese throughout ripening and study of their antimicrobial activity. *Food Control* 18: 716-722.
- Guinot TP, Al Almoury M, Laurent F. 1995. Effects of storage conditions on the composition of raw milk. *Int Dairy J* 5(2): 211-223.
- Hamama A, El Hankouri N, El Ayadi M. 2002. Fate of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in the presence of nisin-producing *Lactococcus lactis* strain during manufacture of Jben, a Moroccan traditional fresh cheese. *Int Dairy J* 12(11): 933-938.
- Kykkidou S, Pournis N, Kostoula O, Savvaidis I. 2007. Effects of treatment with nisin on the microbial flora and sensory properties of a Greek soft acid-curd cheese stored aerobically at 4 C. *Int Dairy J* 17(10):1254-1258.
- Lucke FK. 1994. Improving keeping quality of foods by using protective cultures, possibilities and limits. *Deut Milchw* 45(16): 729-731.
- Miró A, Ríos De Selgrad M. 1999. Calidad microbiológica de los quesos blancos venezolanos analizados en el Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". Período enero 1988 a junio 1998. *INHRR* 30: 14-20.
- Naidu AS, Bidlack WR, Clemens RA. 1999. Probiotic Spectra of Lactic Acid Bacteria (LAB). *Crit Rev Food Sci* 39(1): 13-126.

Organización Panamericana de la Salud (OPS)-Organización Mundial de la Salud (OMS). Representación para Venezuela, Aruba y Antillas Holandesas. Análisis preliminar de la situación de salud en Venezuela. En línea: <http://www.ops-oms.org.ve/site/venezuela/ven-sit-salud-nuevo.htm>. Accesado en Dic. 2006.

Ríos De Selgrad M, Novoa M. 1999. Apoyo del departamento de Microbiología de alimentos del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" (INH "RR") a la investigación de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). INHRR 30: 8-13.

Rodríguez E, Calzada J, Arqés J, Rodríguez J, Nuñez M, Medina M. 2005. Antimicrobial activity of pediocin-producing *Lactococcus lactis* on *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 in cheese. Int Dairy J 15: 51-57.

Rodríguez E, Gaya P, Nuñez M, Medina M. 1998. Inhibitory activity of nisin-producing starter culture on *Listeria innocua* in raw ewes milk Manchego cheese. Int J Food Microbiol 39: 129-132.

Salinas B. 2001. Producción de queso tipo blanco, utilizando como cultivos iniciadores bacterias productoras de bacteriocinas. Trabajo de grado, Magíster Scientiarum en Microbiología. Facultad de Ciencias, Universidad del Zulia.

Samelis J, Kakouri A, Rogga KJ, Savvaidis IN, Kontominas MG. 2003. Nisin treatments to control *Listeria monocytogenes* post-processing contamination on Anthotyros, a traditional Greek whey cheese, stored at 4°C in vacuum packages. Food Microbiol 20: 661-669.

Shillinger U, Guisen R, Holzapfel WH. 1996. Potential of antagonistic microorganisms and bacteriocinas for the biological preservation of foods. Trends Food Sci Tech 7: 158-164.

Silla M. 1985. Utilización de microorganismos fermentadores en la conservación de alimentos. Rev Agroq Tecnol 25(2): 170-182.

Spelhaug SR, Harlander SK. 1989. Inhibition of foodborne bacterial pathogens by bacteriocins from *Lactococcus lactis* y *Pedococcus pentosaceus*. J Food Protect 52(12): 856-862.

Thomas L, Clarkson M, Delves-Broughton J. 2000. Nisin. In, Natural Food Antimicrobial System. A Naiddu (ed). USA: CRC Press. 463-524 p.

Topisirovic L, Kojic M, Fira D, Golic N, Strahinic I, Lozo J. 2006. Potential of lactic acid bacteria isolated from specific natural niches in food production and preservation. Intern J Food Microb 112:230-235.