

Desarrollo de una película comestible de nisina y natamicina con efecto antimicrobiano en queso panela



Alvarado - García J., Cabrera - Álvarez E.G., García - Vázquez V., Guerrero - González J.L., Cano – Ledesma W. R., Martínez - Rangel M.F., Rodríguez Hernández G.

Departamento de alimentos. División de ciencias de la vida. Campus Irapuato -Salamanca. Universidad de Guanajuato. gabriela.rodriguez@ugto.mx¹

Resumen

Una película comestible se caracteriza por ser una capa delgada preformada, elaborada con material comestible, que se aplica sobre los alimentos para prolongar su vida útil. Son generalmente elaboradas de biopolímeros como carbohidratos, proteínas y lípidos. Por otra parte, los quesos frescos, como el queso panela, por su naturaleza láctea y alto contenido de humedad son productos perecederos con corta vida útil. Los antimicrobianos son compuestos químicos añadidos o presentes en los alimentos que retardan el crecimiento microbiano o inactivan a los microorganismos. El objetivo del presente trabajo fue desarrollar una película antimicrobiana comestible a base de nisina y natamicina para extender la vida útil del queso panela, realizando un análisis fisicoquímico de la leche (materia prima), y un monitoreo durante la vida útil del queso (4°C) a los 1 y 14 días, con las cuatro variables, la primera de pH y tres microbiológicas como mesófilos aerobios, coliformes totales y mesófilos aerobios. De los resultados obtenidos, se puede destacar que la película se formuló y aplicó los queso y así bien se mantuvo durante la vida útil de estos, resultando ser el más efectivo el tratamiento antifúngico solo con natamicina ya que la nisina no presentó efecto antibacteriano ni tampoco se observó un efecto sinérgico entre ambos antimicrobianos en las condiciones analizadas.

Palabras clave: Película comestible, antimicrobianos, queso panela.

Introducción

El queso es obtenido por la coagulación de la caseína con cuajo, enzimas apropiadas, drenados o prensados, dando lugar a las diferentes variedades de quesos, pudiendo ser por su proceso: fresco, madurado o procesado (NOM-121-SSA1-1994). El queso panela es un queso fresco, de consistencia blanda, elaborado de leche pasteurizada entera de vaca o cabra. Es altamente perecedero, por lo cual debe de conservarse bajo refrigeración desde el momento de su elaboración (Villegas de Gante, 2012).

Las películas comestibles se caracterizan por ser una capa delgada de materiales de grado alimenticio, esta es formada por separado y después es colocada sobre una superficie firme, regularmente las películas están conformadas por tres componentes que son: los polímeros, el disolvente y el plastificante. El uso de este tipo de películas en los alimentos previene la pérdida o ganancia de humedad, lo que ocasiona una modificación en aspectos de textura, provocando también cambios químicos en propiedades organolépticas, así como en valores nutricionales, ya que actúan como una barrera contra el intercambio de gases que intervienen en la estabilidad química, microbiológica. El uso de estas películas es la mejor alternativa para favorecer y prolongar la calidad de los alimentos, durante su transporte y almacenamiento (Solano-Doblado et al., 2018).

Los antimicrobianos son compuestos químicos que pueden ser añadidos o bien pueden estar presentes en los alimentos, cumpliendo la función de retardar el crecimiento microbiano y mantienen la seguridad del alimento. La mayoría de los agentes antimicrobianos empleados en alimentos solo inhiben el crecimiento de bacterias y hongos, más sin embargo no eliminan su crecimiento, por lo que el producto tiene una vida de anaquel restringida, y es necesario el uso de ciertos factores de conservación que aumenten la vida media del producto (Sauceda, 2011).

Las bacteriocinas son una alternativa de conservadores naturales, para alimentos mínimamente procesados, presentan gran potencial en la preservación de productos lácteos, enlatados, huevo, pescado, entre otros. La aplicación de bacteriocinas en productos lácteos controla el crecimiento de las bacterias ácido lácticas, ya que un aumento de ellas provoca sabores extraños en este tipo de productos; la actividad antimicrobiana de

estos productos es el inhibir microorganismos patógenos como *Clostridium spp.* y *Listeria spp.* (Beristain-Bauza et al., 2012).

La nisina es una sustancia polipeptídica (antibiótico) producida por cepas del género *Lactococcus lactis* a partir de una fermentación en medio lácteo, dentro de la industria alimentaria se le conoce con el código E-234. La nisina es eficaz contra las bacterias Gram positivas, se emplea principalmente para combatir *Clostridium botulinum* y *Bacillus cereus*, y actúa como un bioconservante resistente a tratamientos térmicos, en específico en aquellos que utilizan en su proceso medios ácidos en especial con pH mayores a 3.5 (Sánchez-Martín, 2019). La estructura de la nisina fue establecida por Gross y Morell (1971), se describe como una molécula de aproximadamente treinta aminoácidos de los cuales la lantionina, el B-metil lantionina, la metil lantionina, la dehidroalanina y el ácido dehidroaminobutírico son los más importantes para su efecto antimicrobiano.

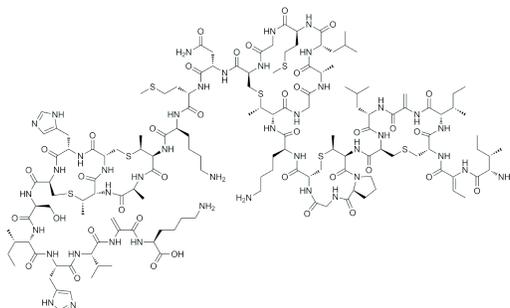


Figura 1. Estructura química de la nisina

La natamicina conocida también como pimarcina, y con código E-235, es un antimicótico, producido por la bacteria *Streptomyces natalensis* y se utiliza para el tratamiento tópico de las infecciones por hongos, así como también dentro de la industria alimentaria para evitar la contaminación de los productos con levaduras y mohos (Ollé, 2015). Protege los alimentos a través de un mecanismo único que dirige el ergosterol hacia la pared celular, el ergosterol es un elemento esencial de los hongos (mohos y levaduras), es responsable del transporte intracelular de nutrientes, este se enlaza a los esteroides en la membrana celular de los hongos para producir un cambio de permeabilidad que permite la pérdida de materiales celulares esenciales, como el ergosterol no está presente en las membranas externas de las bacterias, estas permanecen infectadas. Debido a los beneficios de la natamicina como un método natural y eficiente de conservación de alimentos, su aplicación tiene un enorme potencial para ampliar la vida útil y evitar la descomposición. La estructura de la natamicina se compone por un anillo largo que contiene cuatro enlaces dobles conjugados y un residuo de azúcar (Aparicio et al., 2016).

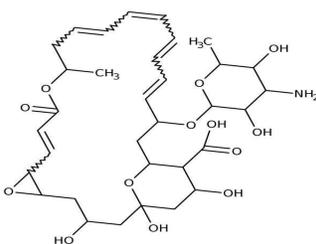


Figura 2. Estructura química de la natamicina

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo desarrollar una película antimicrobiana comestible a base de nisina (antibacterial) y natamicina (antifúngico) para extender la vida útil del queso panela.

Materiales y Métodos

El estudio experimental, se realizó en las instalaciones de la Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-

Salamanca, División de Ciencias de la Vida, Departamento de Alimentos, en el Laboratorio de análisis de alimentos.

Elaboración del queso panela

Para la realización del queso panela, se pasteurizó la leche de vaca a 65°C por 30 minutos, al terminar la pasteurización, se bajó la temperatura a 45°C y se adicionó CaCl₂ a razón de 0.2 g/litro de leche; se dejó reposar 30 minutos manteniendo a 37°C por el resto del proceso. Al pasar los 30 minutos se adiciono 1 ml de cuajo (renina) y se reposó hasta que se formó la cuajada, una vez formada se realizaron cortes de 2 cm³ aproximadamente, se reposo durante otros 5 minutos y posteriormente se agitó, desuero y saló al 1%. Finalmente se moldeó y se dio un último reposado por 12 horas a 5°C, una vez pasado el tiempo fue desmoldado y empaquetado en plástico.

Formulación de las películas antimicrobianas comestibles

Las películas antimicrobianas se elaboraron según lo descrito por Hoffman et al. (2001) y Chams (2013), con algunas adaptaciones, para lo cual, se prepararon soluciones acuosas de carboximetilcelulosa (CMC) al 2.4 % p/v a temperatura de 80°C en baño de María. Después a 60°C se adicionaron glicerol (GLI) al 4% p/v como plastificante y los antimicrobianos nisina (0.00125%) y natamicina (0.002 %) de acuerdo con las concentraciones máximas indicadas en la NOM-121-SSA1-1994, posteriormente se homogeneizaron las emulsiones y se prepararon las películas esparciendo de manera homogénea 50 mL en cajas de Petri de vidrio, para finalmente ser secadas a 40°C por 24 horas. Para este estudio se usaron cinco tratamientos mostrados en la Tabla 1.

Tabla 1. Tratamientos usados de la aplicación de una película antimicrobiana a base de carboximetilcelulosa y glicerol en queso panela.

Número de Tratamiento	Descripción
1	Película con nisina
2	Película con natamicina
3	Película con nisina y natamicina
4	Película base sin antimicrobianos (control 1)
5	Sin película (control 2)

Análisis fisicoquímico de la leche

Se realizó un análisis fisicoquímico a la leche usada como materia prima por triplicado (grasa, sólidos no grasos, densidad, lactosa, proteína, sólidos totales, agua adicionada, punto de congelación y conductividad eléctrica, en el equipo Lactoscan Milk Analyzer (Lactoscan SA, Milkotronic Ltd, Bulgaria).

Evaluación de los quesos panela

Los quesos elaborados en los cinco tratamientos fueron evaluados durante su vida en anaquel a los 1 y 14 días de almacenamiento a 4°C en términos microbiológicos y de pH.

El pH de los quesos se determinó por el método potenciométrico de la NMX-F-99-1970, para lo que se tomaron 1 g de muestra y se trituraron con 10 ml de agua destilada en un vaso de precipitado, usando el potenciómetro digital HANNA Basic HI 98107.

Para la evaluación de los parámetros microbiológicos, según lo establecido por la NOM-110-SSA1-1994, se tomaron 90 mL de buffer de fosfato estéril junto con 10 gr de cada una de los quesos (muestras problema o tratamientos), y se licuaron durante 1 minuto. Posteriormente se elaboró una dilución seriada por muestra (1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000 y 1:100000), para lo cual se añadieron 9 ml de la solución buffer estéril a 5 tubos y 1 ml de muestra correspondiente y se inocularon por duplicado, según lo establecido por las siguientes técnicas: a) la NOM-092-SSA1-1994, método para la cuenta de bacterias mesófilas aerobias en placa, b)

NOM-113-SSA1-1994, método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa y c) la NOM-111-SSA1-1994, método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Posteriormente se reportó la concentración de cada uno de los tres grupos de microorganismo determinados por cada uno de los quesos en términos de UFC/g, y se realizó la comparación con lo establecido en las normas oficiales mexicanas correspondientes.

Resultados

Análisis fisicoquímico de la leche

En la Tabla 2 se presenta el análisis fisicoquímico completo realizado a la leche pasteurizada con la cual se elaboró el queso panela. De acuerdo con los resultados obtenidos de la evaluación fisicoquímica de la leche, los parámetros determinados se encuentran dentro de los valores considerados como aceptables para leche pasteurizada de vaca según la NOM-155-SCFI-2012.

Tabla 2. Análisis fisicoquímico de la leche de vaca.

Parámetro	Valor
Grasa (%)	3.227 ± 0.005
SNG (%)	8.700 ± 0.043
Densidad (kg/m ³)	1.030 ± 0.017
Lactosa (%)	4.780 ± 0.026
Sólidos (%)	0.707 ± 0.005
Proteína (%)	3.180 ± 0.017
Sólidos totales (%)	11.927 ± 0.040
Agua adicionada (%)	0.000 ± 0.000
Temperatura (°C)	19.867 ± 0.057
Punto de congelación (°C)	-0.553 ± 0.003
pH	6.800 ± 0.1000
Conductividad (mS/cm)	4.180 ± 0.020

SNG: Sólidos No Grasos. La tabla presenta promedios y desviaciones estándar.

pH de los quesos

En la Tabla 3 se presenta el análisis de pH para los cinco tratamientos aplicados al queso panela, los cuales fueron monitoreados durante el día 1 y 14, donde se puede observar que existieron diferencias significativas ($p \leq 0.01$) dadas por efecto de los tratamientos y por el día de monitoreo, así también por la interacción de ambas variables. Adicionalmente, se puede observar que el pH es mayor a lo establecido en la Norma Mexicana NMX-F-092-1970, en la que se especifica que los quesos procesados para rebanar o cortar deben mantener un pH de entre 5 y 6; y al pH de 6.18 reportado por Casaubon-Garcín et. al. (2018) para queso panela. Sin embargo, coincide con valores altos de pH 6.9, como los reportados por González-Fonseca (2011), esta diferencia puede deberse al procesamiento y las características fisicoquímicas de la leche, así como el recubrimiento empleado, siendo el tratamiento 3 (película con nisina y natamicina) el más alto.

En el segundo día monitoreado, se muestra una disminución del pH para todos los tratamientos, siendo mayor

la diferencia en el tratamiento 5 (sin película). En los quesos frescos, la humedad y el pH son condiciones muy importantes para controlar, ya que afectan notoriamente la textura y el sabor (Ramírez - López, et. al. 2012).

Tabla 3. Determinación del pH por método potenciométrico en Queso Panela

Tratamiento	Día de monitoreo	pH
1	1	7.267 ± 0.116 ^{a, B}
	14	6.800 ± 0.000 ^{b, B}
2	1	7.265 ± 0.058 ^{a, C}
	14	6.567 ± 0.058 ^{b, C}
3	1	7.333 ± 0.058 ^{a, A}
	14	6.933 ± 0.058 ^{b, A}
4	1	7.200 ± 0.000 ^{a, AB}
	14	7.000 ± 0.000 ^{b, AB}
5	1	7.000 ± 0.000 ^{a, D}
	14	6.200 ± 0.000 ^{b, D}

Los tratamientos corresponden a: 1) película con nisina, 2) película con natamicina, 3) película con nisina y natamicina, 4) película base sin antimicrobianos y 5) sin película. ^{A, B, C, D} Literales en mayúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.01$). ^{a, b} Literales en minúsculas indican diferencias significativas entre día de monitoreo ($p \leq 0.01$).

Análisis microbiológico de los quesos

En la determinación de coliformes totales, no fueron detectados para ninguna de las muestras de queso, así bien se puede decir que los quesos están libres de coliformes, cumpliendo así con la NOM-243-SSA1-2010, misma que establece como límite máximo 10 UFC/g o mL de coliformes fecales en leche, formula láctea, productos lácteos combinados pasteurizados o deshidratados.

Por otra parte, según la NOM-092-SSA1-1994, el recuento de bacterias mesófilas aerobias no pretende poner en evidencia el conteo total de microorganismos presentes en el alimento, ya que la variedad de especies y tipos diferenciados por sus necesidades nutricionales, temperatura requerida para su crecimiento, oxígeno disponible, etc., hacen que el número de colonias contadas constituyan una estimación de la cifra realmente presente, no obstante, logra que el conteo determinado constituya una estimación de la concentración total permitiendo dar un indicio del manejo higiénico del alimento. En la Tabla 4, se muestra la evaluación de las bacterias mesófilas aerobias en los quesos, donde se observa que no existieron diferencias ($p \geq 0.01$) por efecto de tratamientos, ni por día de monitoreo, con respecto a los microorganismos mesofílicos aerobios determinados. No obstante, la interacción entre ambas variables resultó ser significativa ($p \leq 0.01$).

Tabla 4. Cuantificación de bacterias mesófilas aerobias en Queso Panela

Tratamientos	Día de monitoreo	
	1	Concentración en UFC/gramo 0 ± 0
1	14	600 ± 180
	1	300 ± 260
2	14	620 ± 80
	1	60 ± 40
3	14	310 ± 70
	1	860 ± 0
4	14	330 ± 30
	1	430 ± 70
5	14	340 ± 60

Los tratamientos corresponden a: 1) película con nisina, 2) película con natamicina, 3) película con nisina y natamicina, 4) película base sin antimicrobianos y 5) sin película. No se detectaron diferencias significativas ($p \geq 0.01$) por efecto de tratamientos ni por efecto del día de monitoreo.

La Tabla 5, contiene la determinación de mohos y levaduras en los quesos panela, los cuales presentaron diferencias ($p \leq 0.01$), dadas por efecto de los tratamientos y de día de monitoreo a su vez por efecto de la interacción entre ambas variables. En este respecto los tratamientos 4 y 5, ambos controles sin antimicrobianos presentan similitud en el día 14 que es cuando se registró mayor población microbiana. Adicionalmente se observó un aumento fúngico a lo largo del almacenamiento, esta situación también es predecible por la disminución del pH, misma que favorece el crecimiento de estos microorganismos.

Por otra parte, de acuerdo con la NOM-121-SSA1-1994 los quesos frescos tienen como límite máximo 500 UFC/g de hongos y levaduras, en este estudio al inicio la población presente en el queso panela, cumplió con este límites establecidos a excepción del tratamiento 3 que contenía ambos antimicrobianos lo excede. Para los 14 días de almacenamiento los hongos superan los límites establecidos a excepción del tratamiento 2 que, si entran dentro de estos, cumpliendo así con el límite requerido durante toda la vida en anaquel, en este sentido cabe destacar que este tratamiento es el que contenía solo la natamicina que es el antifúngico, por lo cual se recomienda usar solamente este tratamiento para futuros estudios y adicionalmente empacarlo al vacío, para obtener una mayor prolongación de la útil del mismo, como se realizó en el estudio de Rodríguez-Cervantes et al., (2008), se evaluó un queso tipo panela empacado al vacío durante un período de almacenamiento de 30 días a 4°C. Las muestras se analizaron en los días cero, quince y treinta, las cuáles fueron sometidas a análisis microbiológicos de cuenta total de bacterias mesófilas aerobias y de mohos y levaduras. Para las primeras, el conteo inicial se encuentra dentro de los límites establecidos, las cuales aumentaron un poco transcurridos los 15 días, manteniéndose el queso dentro de los límites establecidos y permaneciendo sus características fisicoquímicas y organolépticas. El queso al inicio y a los 15 días, la población se encontró dentro de los límites establecidos por la NOM-121-SSA1-1994. Para los 30 días los hongos superan los límites establecidos.

Adicionalmente cabe destacar que se observó que la técnica de aplicación de la película no fue uniforme, ya que aunque se pesaron las cantidades aplicada para uniformizar, la película no resultó ser uniforme, lo cual representó una deficiencia detectada de la técnica en el presente estudio y se sugiere buscar otras alternativas de aplicación para mejorar los resultados obtenidos.

Tabla 5. Cuantificación de mohos y levaduras en Queso Panela

Tratamientos	Día de monitoreo	Concentración en UFC/gramo
	1	160 ± 0 ^{b, B}
1	14	720 ± 0 ^{a, B}
	1	420 ± 60 ^{b, B}
2	14	230 ± 50 ^{a, B}
	1	780 ± 0 ^{b, B}
3	14	390 ± 190 ^{a, B}
	1	350 ± 110 ^{b, AB}
4	14	1550 ± 10 ^{a, AB}
	1	330 ± 190 ^{b, A}
5	14	2920 ± 920 ^{a, A}

Los tratamientos corresponden a: 1) película con nisina, 2) película con natamicina, 3) película con nisina y natamicina, 4) película base sin antimicrobianos y 5) sin película. ^{A, B, C, D} Literales en mayúsculas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.01$), ^{a, b} Literales en minúsculas indican diferencias significativas entre día de monitoreo ($p \leq 0.01$).

Conclusión

De acuerdo con el estudio realizado durante esta investigación y a los análisis llevados a cabo para cumplir con el objetivo planteado, el cual fue desarrollar una película antimicrobiana comestible a base de nisina y natamicina para extender la vida útil de queso panela, en el análisis de pH, se observaron diferencias significativas por efecto de tratamiento y días de monitoreo, siendo el tratamiento 3 (película con nisina y natamicina) el más alto. Para el análisis microbiológico, no se detectaron coliformes totales en ninguna de las muestras, mesófilos aerobios, no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos ni por efecto de día de monitoreo, lo cual habla de que la nisina por ser el antibacteriano, no presentó efecto, no obstante, para la natamicina si se observó un efecto antifúngico, ya que se observaron diferencias entre tratamientos y entre días de monitoreo aumentando esta población microbiana a lo largo de su vida útil, debido a las características fisicoquímicas del queso, principalmente por su alto contenido de humedad y una disminución del pH, por lo que se concluye que el mejor tratamiento en contra de mohos y levaduras fue el 2 (película + natamicina). Adicionalmente se recomienda para futuros estudios empaquetar los quesos al vacío para prolongar la vida útil y así también, buscar una técnica de aplicación uniforme de la película, ya que fue una deficiencia detectada en el presente estudio.

Bibliografía

- Aparicio, J. F., Barreales, E. G., Payero, T. D., Vicente, C. M., de Pedro, A., & Santos-Aberturas, J. (2016). Biotechnological production and application of the antibiotic pimarcin: biosynthesis and its regulation. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(1), 61-78.
- Beristain-Bauza, S. C., Palou, E., & López-Malo, A. (2012). Bacteriocinas: antimicrobianos naturales y su aplicación en los alimentos. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 6(2), 64-78.
- Casaubon-Garcín, P., Lamshing-Salinas, P., Isoard-Acosta, F., Casaubon - Lemen Meyer, S., Delgado-Franco, D., & Pérez-Lizaur, A. (2018). pH de los alimentos: ¿una herramienta para el manejo de los pacientes con reflujo gastroesofágico? *Revista Mexicana de Pediatría*, 85(3), 89-94.
- Chams, L., Hernandez, C., & Rodríguez, V. (2013). Isolation, phenotypic characterization and antimicrobial susceptibility analysis of Salmonella spp., in samples of fresh handmade cheese sold in the department of Córdoba-Colombia.
- González-Fonseca, A. (2011). Análisis fisicoquímico de: Queso Asadero, Queso Panela y Queso Doble Crema, en la empresa Lácteos de Chiapas SA de CV. *Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas*.
- Gross, E., & Morell, J. L. (1971). Structure of nisin. *Journal of the American Chemical Society*, 93(18), 4634-4635.
- Hoffman, K. L., Han, I. Y., & Dawson, P. L. (2001). Antimicrobial effects of corn zein films impregnated with nisin, lauric acid, and EDTA. *Journal of food protection*, 64(6), 885-889.
- Norma Mexicana NMX-F-092-1970. Calidad para quesos procesados. Dirección General de Normas.
- Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Diario Oficial de la Federación, 12 de diciembre de 1995.
- Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Diario Oficial de la Federación, 10 de mayo de 1995.
- Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Diario Oficial de la Federación, 15 de agosto de 1994.
- Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. Diario Oficial de la Federación, 10 de mayo de 1995.
- Norma Oficial Mexicana NOM-121-SSA1-1994. Norma Oficial Mexicana, bienes y servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias. Diario Oficial de la Federación, 15 de diciembre de 1995.
- Norma Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2012. Leche-Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. Diario Oficial de la Federación, 15 de marzo de 2012.
- Ollé Resa, C. P. (2015). Desarrollo de matrices biopoliméricas como soporte de los antimicrobianos naturales natamicina y nisina para la conservación de alimentos lácteos (Doctoral dissertation, Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales).
- Ramírez-López, C., & Vélez-Ruiz, J. F. (2012). Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *Temas selectos de ingeniería en alimentos*, 6(2), 131-148.
- Rodríguez-Cervantes, I., Saldaña-Valerio, E., García-Almendárez, B., & Regalado-González, C. (2008). Sobrevivencia de dos bacterias probióticas en dos quesos frescos mexicanos deslactosados: panela y Oaxaca. *Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos*,

Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro, CU, Cerro de las Campanas s/n Col. las Campanas. Querétaro, 76010.

- Sánchez-Martín, M. A., Salgado-Calvo, M. T., San-Miguel-Hernández, Á., Pachón-Julián, J., Rodríguez-Barbero, E., Pastor-Martín, M. R., & Cabrero-Lobato, P. (2019). Nisina (N 234), aditivo utilizado como conservante en alimentos. *Gaceta Médica de Bilbao*, 116(4), 166-173.
- Sauceda, E. N. R. (2011). Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai: revista científica de sociedad, cultura y desarrollo sostenible*, 7(1), 153-170.
- Solano-Doblado, L. G., Alamilla-Beltrán, L., & Jiménez-Martínez, C. (2018). Películas y recubrimientos comestibles funcionalizados. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 21.
- Villegas De Gante, A. (2012). *Tecnología Quesera: Vol. 1. (Segunda edición)*. Editorial Trillas. Pp. 405