



# **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

## **FACULTAD DE CIENCIAS**

### **ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

#### **“EVALUACIÓN HIGIÉNICO – SANITARIA DE LA QUESERA ARTESANAL COD.Q4 UBICADA EN LA PARROQUIA QUÍMIAG, CANTÓN RIOBAMBA, PROVINCIA DE CHIMBORAZO”**

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:

#### **BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA:** VERÓNICA YESENIA CONTERO RAMOS.

**TUTORA:** DRA. ANA KARINA ALBUJA

Riobamba - Ecuador

2017

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de titulación **EVALUACIÓN HIGIÉNICO – SANITARIA DE LA QUESERA ARTESANAL COD.Q4 UBICADA EN LA PARROQUIA QUÍMIAG, CANTÓN RIOBAMBA, PROVINCIA DE CHIMBORAZO**, de responsabilidad de la señorita Verónica Yesenia Contero Ramos, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

**FIRMA**

**FECHA**

Dra. Ana Karina Albuja

**DIRECTOR DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Ing. Paola Arguello. M.sc

**MIEMBRO DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Yo, **Verónica Yesenia Contero Ramos**, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este Trabajo de Titulación y el patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

---

**VERÓNICA YESENIA CONTERO RAMOS.**

Yo, **Verónica Yesenia Contero Ramos**, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 19 de Abril de 2017

---

Verónica Yesenia Contero Ramos.

C.I.060396852-0

## **DEDICATORIA**

El esfuerzo realizado durante mi vida estudiantil se lo dedico a Dios y a la madre Dolorosa por las infinitas bendiciones, por darme fortaleza y fe para continuar sin decaer a pesar de los obstáculos que se han presentado en el camino.

A mis padres Wáshington y Verónica por su gran amor y esfuerzo realizado para darme lo mejor en la vida, ser mis mejores amigos y consejeros para hacer de mí una persona de bien, por su humildad y enseñanza en valores, pero sobre todo por permanecer siempre a mi lado en esta lucha constante en alcanzar mis objetivos.

A mis amados hermanos Marcelo y Felipe que han sido mi mejor compañía en la vida, por el inmenso cariño que nos mantiene siempre unidos como familia y por ser mi mayor ejemplo a seguir.

A mi amada sobrina Kristel, mi regalo de Dios que con su luz, ternura y alegría es mi motivo fundamental para seguir adelante en la vida, porque basta solo mirarle para dejar a un lado cualquier problema.

A mi novio y amigo Diego por todas las experiencias compartidas que ha fortalecido este amor, por estar juntos en esta lucha y persistir en los buenos y malos momentos, y por ser quien ha sabido brindarme su amor, paciencia y apoyo.

**Verónica Yesenia**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por darme salud, vida y con sus bendiciones acompañarme en el camino para ser una profesional.

A mis padres por constituir un pilar fundamental en mi vida ya que con su amor, sabiduría y esfuerzo han sabido educarme con buenos valores, guiarme y apoyarme para alcanzar las metas que me he propuesto en la vida, y por la confianza depositada en mí, sin ellos ningún logro hubiera sido posible.

A mis hermanos por sus palabras de aliento y por ser un apoyo incondicional para seguir adelante en la lucha de mis objetivos.

A mi novio por alentarme en la lucha constante por cumplir mis sueños y permanecer junto a mí en todo momento.

A mis queridos amigos y amigas por los momentos compartidos que han fortalecido nuestra amistad y han hecho de este camino una experiencia maravillosa.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por abrirme sus puertas en la educación y los conocimientos impartidos en sus aulas para hacer de mí una buena profesional, de manera especial a la Dra. Anita Albuja, Ing. Paola Arguello y Dr. Carlos Espinoza por hacerme partícipe del presente proyecto, por su apoyo y colaboración durante el desarrollo de la investigación.

**Verónica Yesenia**

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	XIII
SUMARY.....	XIV
INTRODUCCIÓN.....	1

### CAPITULO I

<b>1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....</b>	<b>3</b>
<b>1.1. Leche.....</b>	<b>3</b>
1.1.1. <i>Leche Cruda</i> .....	3
1.1.2. <i>Leche Pasteurizada</i> .....	3
<b>1.2. Composición química y valor nutricional de la leche.....</b>	<b>3</b>
1.2.1. <i>Agua</i> .....	4
1.2.2. <i>Sustancias Nitrogenadas</i> .....	5
1.2.3. <i>Materia grasa</i> .....	5
1.2.4. <i>Hidratos de Carbono</i> .....	6
1.2.5. <i>Minerales</i> .....	6
1.2.6. <i>Vitaminas</i> .....	7
<b>1.3. Microbiología de la Leche.....</b>	<b>7</b>
1.3.1. <i>Microorganismos presentes en la leche cruda</i> .....	7
1.3.1.1. <i>Bacterias</i> .....	8
1.3.1.2. <i>Levaduras y Hongos</i> .....	11
1.3.2. <i>Fuentes de Contaminación de la leche</i> .....	11
1.3.2.1. <i>Contaminantes químicos</i> .....	12
1.3.2.2. <i>Contaminantes biológicos</i> .....	13
<b>1.4. Control de Calidad de la Leche.....</b>	<b>15</b>
1.4.1. <i>Requisitos Organolépticos</i> .....	15
1.4.2. <i>Requisitos Físico-Químicos</i> .....	15

1.4.2.1.	<i>Densidad Relativa</i> .....	16
1.4.2.2.	<i>Acidez Titulable</i> .....	17
1.4.2.3.	<i>pH</i> .....	17
1.4.2.4.	<i>Residuos de medicamentos veterinarios</i> .....	17
<b>1.4.3.</b>	<b><i>Requisitos Microbiológicos</i></b> .....	<b>18</b>
1.4.3.1.	<i>Requisitos microbiológicos para leche cruda</i> .....	18
1.4.3.2.	<i>Requisitos microbiológicos para leche pasteurizada</i> .....	18
<b>1.5.</b>	<b>Derivados Lácteos</b> .....	<b>19</b>
<b>1.6.</b>	<b>Queso</b> .....	<b>20</b>
<b>1.6.1.</b>	<b><i>Definición</i></b> .....	<b>20</b>
<b>1.6.2.</b>	<b><i>Clasificación</i></b> .....	<b>21</b>
<b>1.7.</b>	<b>Queso Fresco</b> .....	<b>21</b>
<b>1.7.1.</b>	<b><i>Definición</i></b> .....	<b>21</b>
<b>1.7.2.</b>	<b><i>Composición química y valor nutricional</i></b> .....	<b>22</b>
<b>1.8.</b>	<b>Proceso de elaboración del queso fresco</b> .....	<b>22</b>
<b>1.9.</b>	<b>Calidad del Queso Fresco</b> .....	<b>24</b>
<b>1.9.1.</b>	<b><i>Control de calidad del queso fresco</i></b> .....	<b>25</b>
1.9.1.1.	<i>Requerimiento microbiológico de quesos frescos no madurados</i> .....	25
<b>1.10.</b>	<b>Microorganismos indicadores de contaminación en leche, queso y salmuera</b> ....	<b>26</b>
<b>1.10.1.</b>	<b><i>Aerobios mesófilos</i></b> .....	<b>26</b>
<b>1.10.2.</b>	<b><i>Coliformes</i></b> .....	<b>26</b>
<b>1.10.3.</b>	<b><i>Escherichia coli</i></b> .....	<b>27</b>
<b>1.10.4.</b>	<b><i>Staphylococcus aureus</i></b> .....	<b>27</b>
<b>1.11.</b>	<b>Quesera Artesanal</b> .....	<b>28</b>
<b>1.12.</b>	<b>Prácticas Correctas de Higiene (PCH)</b> .....	<b>29</b>
<b>CAPITULO II</b>		
<b>2.</b>	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	<b>31</b>
<b>2.1.</b>	<b>Lugar de Investigación</b> .....	<b>31</b>



<b>2.2.</b>	<b>Factores de estudio.</b>	32
<b>2.2.1.</b>	<b><i>Población</i></b>	32
<b>2.2.2.</b>	<b><i>Muestra</i></b>	32
<b>2.3.</b>	<b>Materiales, Equipos y Reactivos.</b>	32
<b>2.3.1.</b>	<b><i>Muestras</i></b>	32
<b>2.3.2.</b>	<b><i>Análisis físico-químicos</i></b>	33
<b>2.3.3.</b>	<b><i>Análisis microbiológicos</i></b>	34
<b>2.4.</b>	<b>Metodología</b>	35
<b>2.4.1.</b>	<b><i>Levantamiento de la línea base</i></b>	35
<b>2.4.2.</b>	<b><i>Verificación de las Prácticas Correctas de Higiene</i></b>	36
<b>2.4.3.</b>	<b><i>Toma y transporte de muestras</i></b>	36
2.4.3.1.	<i>Muestreo de leche cruda, leche pasteurizada, suero y salmuera</i>	36
2.4.3.2.	<i>Muestreo del queso</i>	37
2.4.3.3.	<i>Muestreo de superficies vivas e inertes.</i>	37
2.4.3.4.	<i>Muestreo del ambiente</i>	38
2.4.3.5.	<i>Muestreo de manipuladores</i>	40
<b>2.4.4.</b>	<b><i>Análisis Físico-químicos</i></b>	40
2.4.4.1.	<i>Densidad relativa.</i>	40
2.4.4.2.	<i>Acidez titulable.</i>	41
2.4.4.3.	<i>Detección de antibióticos.</i>	42
<b>2.4.5.</b>	<b><i>Análisis Microbiológicos</i></b>	43
2.4.5.1.	<i>Preparación de la suspensión inicial y diluciones.</i>	44
2.4.5.2.	<i>Determinación de Aerobios Mesófilos en agar para métodos estándar.</i>	45
2.4.5.3.	<i>Determinación de mohos y levaduras en Agar Sabouraud con Cloranfenicol.</i>	46
2.4.5.4.	<i>Determinación de Staphylococcus aureus, Enterobacterias y E.coli / Coliformes mediante la técnica de Petrifilm según 3M.</i>	47
2.4.5.5.	<i>Confirmación de Staphylococcus aureus por fermentación en agar manitol salado.</i>	49

### **CAPITULO III**

<b>3.</b>	<b>MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.</b>	<b>51</b>
<b>3.1.</b>	<b>Cumplimiento de las Prácticas Correctas de Higiene.</b>	<b>51</b>
<b>3.2.</b>	<b>Resultados del análisis físico-químico.</b>	<b>55</b>
<b>3.3.</b>	<b>Resultados del análisis microbiológico.</b>	<b>57</b>
<b>3.3.1.</b>	<i>Resultados del Análisis Microbiológico de la Materia Prima.</i>	<b>58</b>
<b>3.3.2.</b>	<i>Resultados del Análisis Microbiológico de Suero, Queso y Salmuera.</i>	<b>60</b>
<b>3.3.3.</b>	<i>Resultados del Análisis Microbiológico de Superficies.</i>	<b>65</b>
<b>3.3.4.</b>	<i>Resultados del Análisis Microbiológico de los manipuladores de alimentos.</i>	<b>68</b>
<b>3.3.5.</b>	<i>Resultados del Análisis Microbiológicos del Ambiente.</i>	<b>70</b>
	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>72</b>
	<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>74</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
	<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Composición general de la leche en diferentes especies (por cada 100 gr).....	4
Tabla 2-1: Requisitos físico-químicos de la leche cruda.....	15
Tabla 3-1: Requisitos microbiológicos de la leche cruda. ....	18
Tabla 4-1: Requisitos microbiológicos para la leche pasteurizada. ....	18
Tabla 5-1: Clasificación y designación de los quesos.....	21
Tabla 6-1: Requisitos microbiológicos para quesos frescos no madurados.....	25
Tabla 1-2: Diluciones de las muestras de materias primas, suero, salmuera y queso. ....	44
Tabla 1-3: Porcentaje de cumplimiento de las PCH en la Quesera artesanal COD.Q4 .....	51
Tabla 2-3: Resultados del Análisis físico-químico de leche cruda y suero.....	55
Tabla 3-3: Resultados del Análisis Microbiológico de la materia prima. ....	58
Tabla 4-3: Resultados del análisis microbiológico de A. mesófilos, <i>S. aureus</i> y Enterobacterias en Suero, Queso y Salmuera. ....	60
Tabla 5-3: Resultados del análisis microbiológico de Coliformes y <i>Escherichia coli</i> en Suero, Queso y Salmuera. ....	63
Tabla 6-3: Resultados del análisis microbiológico de Superficies Regulares.....	65
Tabla 7-3: Resultados del análisis microbiológico de Superficies Irregulares. ....	67
Tabla 8-3: Resultados del análisis microbiológico de los manipuladores de alimentos. ....	68
Tabla 9-3: Resultados del análisis microbiológico del ambiente.....	70

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-2: Mapa de Ubicación de la Parroquia Químiag. ....	31
Figura 2-2: Procedimiento Test Trisensor.....	43
Figura 3-2: Técnica de siembra en Placas 3M™ Petrifilm™.....	48

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-1: Esquema de elaboración del queso.....	22
Gráfico 1-3: Porcentaje de Cumplimiento Grupal de los Requisitos de las PCH en la Quesera Artesanal COD.Q4. ....	52

## RESUMEN

Se evaluó las condiciones higiénico-sanitarias de la Quesera Artesanal COD.Q4 ubicada en la parroquia Químiag, Riobamba-Chimborazo, a través de la determinación del porcentaje de cumplimiento de las Prácticas Correctas de Higiene (PCH) y el análisis de la calidad físico-química y microbiológica de las materias primas y producto terminado, además se evaluó la carga microbiana presente en superficies vivas e inertes y ambiente del establecimiento en tres muestreos. Se aplicó la resolución 057:2015 de la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia sanitaria para la evaluación de las PCH. Los microorganismos indicadores de calidad higiénica y sanitaria fueron determinados según los métodos establecidos en las normativas para: aerobios mesófilos (NTE INEN 1529-5,2006), *Staphylococcus aureus*, Enterobacterias, Coliformes y *Escherichia coli* en base a la guía (Petrifilm™ 3M™, 2003), Mohos y levaduras según la guía (MINSA, 2007). Como resultados se obtuvo un 27,84% de cumplimiento total de PCH, que evidencian las deficientes condiciones higiénico - sanitarias en el establecimiento. Las muestras con mayor contaminación del patógeno *Staphylococcus aureus* fueron: suero ( $5,84 \pm 0,06$ ) log UFC/mL, queso ( $5,08 \pm 0,06$ ) log UFC/g, salmuera ( $2,36 \pm 0,10$ ) log UFC/mL, superficies (mesa, prensa, lira, agitador, termómetro) y manos del manipulador ( $5,64 \pm 0,10$ ) log UFC/manos. Se presentó una carga microbiana elevada de Enterobacterias en leche cruda, suero y queso, además se evidenció crecimiento de mohos y levaduras en manos del manipulador. Se concluye que la leche cruda, suero y queso incumplen con los índices de calidad establecidos en las normas referenciadas, además al entrar en contacto las superficies vivas e inertes con el producto, pueden aportar una carga microbiana, constituyendo una fuente de contaminación ligado a deficientes procesos de limpieza y desinfección, por lo que se recomienda capacitar al personal para mejorar estas condiciones en la quesera artesanal.

**PALABRAS CLAVE:** <EVALUACIÓN HIGIÉNICO-SANITARIA> <QUESERA ARTESANAL> <PRÁCTICAS CORRECTAS DE HIGIENE> <ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO> <ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO> <BIOQUÍMICA Y FARMACIA> <QUÍMIAG (PARROQUIA)> <RIOBAMBA (CANTÓN)>

## SUMMARY

In the present research, the hygienic-sanitary conditions of the COD.Q4 artisanal cheese factory located in Quimiag parish, Riobamba- Chimborazo were evaluated through the determination of the percentage of compliance with the Correct Practices of Hygiene (CPH) and the analysis of the physical-chemical and microbiological quality of raw materials and finished product. In addition, the microbial load present in living and inert surfaces and the environment of the establishment. It was evaluated in three samples. It was applied the resolution 057:2015 of the National Agency for Regulation, Control and Health Surveillance for the evaluation of CPH. The microbiological indicators of hygienic and sanitary quality were determined according to the methods established in the regulations for: aerobic mesophiles (NTE INEN 1529-5,2006), *Staphylococcus aureus*, Enterobacteriaceae, Coliforms and *Escherichia coli* based on the guide (Petrifilm™ 3™, 2003), molds and yeasts according to the guide (MINSA, 2007). As results, a total of 27.84% of total CPH compliance was obtained, evidencing the poor hygienic-sanitary conditions in the establishment. The samples with the greatest contamination of the pathogen *Staphylococcus aureus* were: UFC / mL whey ( $5,84 \pm 0,06$ ), log UFC / g cheese ( $5,08 \pm 0,06$ ), log UFC / mL, brine ( $2.36 \pm 0.10$ ), Surfaces (table, press, lyre, stirrer, thermometer) and hands of the manipulator ( $5.64 \pm 0.10$ ) log CFU / hands. An elevated microbial load of Enterobacteriaceae was presented in raw milk, whey and cheese. Also growth of molds and yeasts in the hands of the manipulator was evident. It is concluded that raw milk, whey and cheese do not comply with the quality indexes established in the referenced standards. When the living and inert surfaces come in contact with the product, they can contribute a microbial load, constituting a source of contamination linked to deficient processes of cleaning and disinfection, so it is recommended to train the personnel to improve these conditions in the artisanal cheese factory.

**Keywords:** <HYGIENIC-SANITARY EVALUATION> <ARTISANAL CHEESE>  
<CORRECT HYGIENE PRACTICES> <MICROBIOLOGICAL ANALYSIS> <PHYSIC-CHEMICAL ANALYSIS> <BIOCHEMISTRY AND PHARMACY> <QUÍMIAG (PARROQUIA)> <RIOBAMBA (CANTÓN)>

## INTRODUCCIÓN

El queso constituye uno de los productos lácteos de mayor consumo en los hogares a nivel de Ecuador, mensualmente se consumen 1,36 millones de kilos de queso de todas las variedades, donde el queso fresco corresponde al 81,5% del total (Arguello et al., 2015: p.67). Dentro de las preferencias del consumidor al momento de elegir este producto se destacan el sabor, su precio pero principalmente la calidad del mismo, por lo que las personas prefieren adquirirlos en un supermercado (40,2%), en una tienda de barrio (29,8%) o en el mercado (20%) (Jaramillo, 2015, p.6).

Durante siglos la actividad quesera ha sido conocida en el Ecuador, el desarrollo más notable del sector lácteo se ha evidenciado en las empresas industriales productoras de queso a raíz de las políticas agropecuarias que impulsaron su crecimiento. Décadas atrás ya era común la operación de queserías caseras en haciendas ganaderas (Castillo, 2013, p.18). En las parroquias de la Provincia de Chimborazo se ha impulsado la producción de quesos manufacturados de manera artesanal, esta actividad se realiza tanto en áreas urbanas como rurales, donde se destaca que estas últimas han carecido de seguimiento y control que asegure la obtención de productos de calidad comercial. (Arguello et al., 2015: p.67)

Estudios realizados señalan que los alimentos preparados artesanalmente, representan un riesgo para la salud como en el caso del queso, puesto que al tratarse de un alimento de alto valor nutritivo, su composición química, el grado de hidratación y las prácticas sanitarias deficientes de expendio y comercialización, son factores que favorecen el desarrollo y proliferación de microorganismos patógenos (Arguello et al., 2015: p.67). Esta falta de calidad e inocuidad desemboca en consecuencias que afectan directamente al consumidor produciendo Enfermedades Transmitidas por los alimentos, conocidas como ETAs (Kopper et al., 2009: p.4).

Las ETAs constituyen un problema de carácter social, tecnológico, económico, cultural y político, las cuales se originan por el consumo de alimentos contaminados con microorganismos, parásitos o sustancias tóxicas producidas por ellos, por lo que en países en vías de desarrollo, las autoridades y entidades afines recurren a campañas de vigilancia a fin de prever y corregir situaciones que pueden resultar peligrosas y afecten la salud de la población (Kopper et al., 2009: p.4).

Estadísticas expuestas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) indican que el 30% de las muertes por ETAs, se producen en niños menores de 5 años que representan solo 9% de la población mundial. En el continente americano las enfermedades diarreicas producidas por



alimentos contaminados, son causas principales de morbilidad en población de todas las edades y de mortalidad en los niños (OMS, 2015).

El Ministerio de Salud Pública del Ecuador (MSP) notificó 313 casos de Intoxicación Alimentaria reportándose que el número de casos ha incrementado en un 46%, y la población más afectada constituye el grupo de edad de 20 a 49 años (MSP, 2014, p.8).

En este contexto, se realizó el presente proyecto enmarcado en la línea de Seguridad Alimentaria, la cual menciona el derecho de las personas de tener acceso a alimentos sanos y nutritivos (FAO, 2011, p.2), la investigación se lleva a cabo debido a la falta de control de calidad e inadecuada inspección de medidas higiénicas y sanitarias en establecimientos artesanales. Para tener un conocimiento de la situación real de las condiciones en las que se elaboran los quesos frescos, se realizó la evaluación higiénico-sanitaria de la Quesera artesanal COD.Q4 ubicada en la parroquia rural Químiag del cantón Riobamba perteneciente a la provincia de Chimborazo.

Se ejecutó un diagnóstico general del establecimiento evaluado mediante el porcentaje de cumplimiento de Prácticas Correctas de Higiene a través de listas de control, se realizó el análisis físico-químico de leche cruda y suero, y la determinación microbiológica de Aerobios mesófilos, *Staphylococcus aureus*, Enterobacterias, Coliformes y *Escherichia coli*, microorganismos indicadores de calidad higiénica y sanitaria, en muestras de leche cruda, leche pasteurizada, suero, queso, salmuera, superficies (equipos y materiales), ambiente donde se elabora el producto y manos del personal manipulador de los alimentos, en los cuales se evaluó también la presencia de Mohos y levaduras. Con los resultados se pretende evaluar los factores que inciden directa o indirectamente en la calidad e inocuidad de los quesos frescos elaborados de manera artesanal en la Quesera.

## CAPITULO I

### 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

#### 1.1. Leche

*“Producto de la secreción normal de las glándulas mamarias de animales bovinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos, sin ningún tipo de adición o extracción.”* (NTE INEN 0009, 2012, p.1)

##### *1.1.1. Leche Cruda*

De acuerdo a la Norma NTE INEN 0009, (2012, p.1), se considera como leche cruda, aquella que no haya sido sometida a calentamiento, es decir que su temperatura no supera a la de la leche extraída inmediatamente de la ubre (no mayor a 40°C) o no ha sufrido tratamiento térmico, exceptuando el enfriamiento para su conservación, ni ninguna modificación en su composición.

##### *1.1.2. Leche Pasteurizada.*

Se define así, a la leche cruda homogenizada o no, la cual ha sido sometida a un tratamiento térmico que asegure la destrucción total y casi total, de los microorganismos patógenos y banales (saprofitos), respectivamente; sin modificar sensiblemente sus características fisicoquímicas, nutricionales, ni organolépticas. (NTE INEN 0010, 2012, p.1)

#### 1.2. Composición química y valor nutricional de la leche.

La leche es un líquido de color blanco opalescente constituido por la mezcla de distintas sustancias, el componente más abundante es el agua y representa aproximadamente entre un 82%

y 82.5% de la leche, en ella se encuentran las proteínas en su mayoría en suspensión, las sales y azúcares en forma de solución y la materia grasa en emulsión. (Agudelo Gómez, 2005).

Al conjunto de componentes de la leche con exclusión del agua, se lo conoce como “Extracto seco total” o “Sólidos totales” que alcanzan cifras entre 12,1% y 13%; mientras que se denomina “Extracto seco magro” al contenido de la leche en sólidos exceptuando la grasa situándose generalmente en valores muy próximos al 9%. (Gil Hernández, 2010)

A la leche se le considera un alimento con alto valor nutricional, debido a su composición, la cual varía por diversos factores como: la raza, el modo de alimentación, los factores climáticos y estado salubre de la vaca.

**Tabla 1-1:** Composición general de la leche en diferentes especies (por cada 100 gr)

<b>Nutriente (gr.)</b>	<b>Vaca</b>	<b>Búfala</b>	<b>Mujer</b>
Agua	88	84	87.5
Energía (Kcal).	61	97	7.0
Proteína	3.2	3.7	1.0
Grasa	3.4	6.9	4.4
Lactosa	4.7	5.2	6.9
Minerales	0.72	0.79	0.20

Fuente: (Agudelo Gómez, 2005)

Realizado por: Verónica Contero. 2017

### ***1.2.1. Agua.***

El agua es la fase continua de la leche, en la cual las grasas y otros constituyentes de mayor tamaño se hallan emulsionados o suspendidos; en la leche el agua se encuentra de dos maneras: libre y ligada. En el agua libre se mantienen en forma de solución las sales y la lactosa, y el agua ligada es el elemento de enlace de compuestos no solubles y es adsorbida a la superficie de éstos. (Artica Mallqui, 2014)

### **1.2.2. Sustancias Nitrogenadas.**

Los compuestos nitrogenados constituyen la parte más compleja de la leche y se distinguen dos tipos: las proteínas suponen el 95 % y el 5 % lo conforman las sustancias nitrogenadas no proteicas. (Artica Mallqui, 2014)

**Proteínas.-** Se dividen en dos grupos: Caseínas y proteínas del suero.

Las **caseínas**, representan el 80 % del total de las proteínas de la leche de vaca, y se agrupan formando complejos moleculares denominados micelas de caseína que se hallan en suspensión, tienen un amplio número de aminoácidos donde los más representativos son el ácido glutámico, la leucina, y la prolina. Además es la proteína más característica y abundante de la leche, debido a que no está presente en otros alimentos, en ésta se diferencian tres clases ( $\alpha$ ,  $\beta$  y kapa caseína). (Gil Hernández, 2010)

Las **proteínas del suero**, constituyen aproximadamente el 20% de las proteínas totales de la leche; quedan en solución cuando la leche llega hasta el pH 4,6 (punto isoeléctrico de la caseína) donde por acidificación o acción de enzimas proteolíticas ocurre la precipitación de las caseínas. (Roca Fernández, 2002). Las proteínas séricas se desnaturalizan cuando la leche es sometida a tratamientos térmicos, debido a que son sensibles al calor, entre ellas se encuentran:  $\alpha$ -lactoalbúmina,  $\beta$ -lactoglobulina, proteasas-peptonas, inmunoglobulinas, albúmina sérica y otras proteínas. (Gil Hernández, 2010)

### **1.2.3. Materia grasa.**

La grasa constituye alrededor del 3 % de la leche, su mayor parte es sintetizada en las células secretoras de las glándulas mamarias, se presentan como partículas suspendidas o emulsionadas en pequeños glóbulos microscópicos (con un diámetro que varía entre 0.1 y 0.22 micrones), están cubiertos de fosfolípidos los cuales forman una capa que impide la aglutinación de las grasas y lo separa de la parte acuosa. La grasa láctea puede afectarse por la acción de la luz, oxígeno y enzimas como las lipasas; debido a que procesos hidrolíticos oxidativos dan origen a la formación de aldehídos, peróxidos, cetonas y ácidos grasos libres, ocasionando alteraciones del sabor (enranciamiento de lípidos). (Agudelo Gómez, 2005)

La materia grasa de la leche está constituida por una mezcla de triglicéridos, donde los ácidos grasos suponen aproximadamente el 90 % y el más importante es el ácido butírico; además está conformada por grasas no saponificables como pigmentos y vitaminas liposolubles. (Artica Mallqui, 2014)

#### ***1.2.4. Hidratos de Carbono.***

Los hidratos de carbono en la leche están compuestos principalmente por lactosa, y en mínimas proporciones por algunos otros azúcares como glucosa y galactosa y otros carbohidratos como glucolípidos, glucoproteínas y oligosacáridos.

La **lactosa**, es el carbohidrato más abundante, se caracteriza debido a que existen dos isómeros:  $\alpha$ -lactosa y  $\beta$ -lactosa, se presentan en un porcentaje de 37 % y 63 % respectivamente. Es poco soluble en agua y cristaliza rápidamente, tiene un sabor dulce débil que es enmascarado por la caseína. Puede formar ácido láctico cuando es fermentado por bacterias, éste ácido ocasiona que el pH disminuya para que ocurra la coagulación en el proceso de obtención de queso fresco y leches fermentadas. (Gil Hernández, 2010)

#### ***1.2.5. Minerales.***

La leche de vaca contiene elementos minerales como sodio, potasio, magnesio, calcio, manganeso, hierro, cobalto, cobre, fósforo, fluoruros, yoduros. Ciertos metales, en especial los alcalinos y halógenos en la solución se presentan libres formando iones, mientras que el calcio en su mayoría se encuentra ligado a la caseína y solamente un tercio de él y el magnesio se presentan en disociación iónica. Existen variaciones en la concentración de los minerales originadas por estados patológicos como enfermedades del metabolismo, trastorno secretor, etc.; es habitual que el primer signo de una alteración secretora sea la disminución de la tasa de calcio; éste último desempeña un papel positivo para la coagulación enzimática de la leche en la elaboración del queso. (Agudelo Gómez, 2005)

### **1.2.6. Vitaminas**

La leche es uno de los alimentos con una variedad completa de vitaminas, aunque algunas de ellas se presentan en cantidades mínimas. El contenido vitamínico varía de acuerdo al tipo de alimentación, estado de salubridad del animal y puede verse afectado por los tratamientos tecnológicos a los cuales la leche es sometida, ocasionando una pérdida de vitaminas.

El conjunto de vitaminas hidrosolubles lo conforman aquellas del grupo B y vitamina C, presentes en la fase acuosa de la leche (suero), y por otra parte, en la materia grasa se hallan las vitaminas liposolubles (A, D, E y K). (Gil Hernández, 2010)

### **1.3. Microbiología de la Leche.**

Debido a la composición bioquímica compleja y alto contenido de agua, la leche es utilizada como sustrato para los microorganismos saprófitos y patógenos que se ayudan de ella para su reproducción. Las bacterias saprófitas no influyen sobre la salud, sin embargo, actúan como indicadores de la higiene en el ordeño del animal y por consiguiente de la conservación de la leche. (Heer, 2013, p.1)

Existe diferencias significativas entre la flora bacteriana presente en leche cruda, pasteurizada y derivados lácteos, debido a que interfieren ciertas variables como el tipo de bacterias y la contaminación de los alimentos que dependen de los microorganismos, los cuales pueden ser patógenos y producir toxinas, que ocasionan cambios no deseados en las características físico químicas y alteran la composición de la leche, afectando así la calidad de ésta y sus derivados, que posteriormente origina enfermedades en el consumidor. (Heer, 2013, p.1)

#### **1.3.1. Microorganismos presentes en la leche cruda**

La leche es un alimento que por sus características y composición nutritiva, resulta un medio oportuno para el desarrollo de bacterias, levaduras y hongos.

### 1.3.1.1. Bacterias

Las bacterias se clasifican en gram positivas dentro de las cuales las más relevantes en el campo tecnológico son las lácticas; y gram negativas que son bacterias perjudiciales que pueden estar presentes en la leche, las más importantes desde el punto de vista sanitario son las Enterobacterias.

#### **Bacterias Gram positivas**

Son de distintos géneros, presentan formas de bacilos, cocos y ovoides, se hallan en lugares con concentraciones elevadas de proteínas, carbohidratos y vitaminas, soportan pocas cantidades de oxígeno, y toleran pH 4 en la leche. Son microorganismos anaerobios facultativos, mesófilos y termófilos; pueden ser homo o heterofermentativos. (Celis y Juárez, 2009: p.14)

#### **– Bacterias ácidas lácticas**

Se muestran forma de cocos o bacilos, son un conjunto de bacterias de diferentes géneros de los cuales los más destacados son: lactococcus, lactobacillus, leuconostoc, enterococcus, pediococcus, streptococcus. Son bacterias de gran importancia en el campo tecnológico, debido a que ayudan a establecer condiciones para la elaboración de derivados lácteos, puesto que por efecto de la acidez generada en la fermentación de la lactosa, la leche coagula por la precipitación de las caseínas, lo que posibilita la fabricación de productos lácteos como quesos y yogurt. Así también en la obtención de mantequilla y crema, una acidificación ligera acelera el proceso de producción de polisacáridos que amplía la viscosidad de la leche cambiando su textura (*S. termophilus*, *Lb. bulgaricus*, *Lc.cremoris*). Prolongan la vida útil de alimentos elaborados con sus cultivos, debido a que ejercen la función de biopreservadores, ya sea produciendo bacteriocinas (proteínas) que actúan como antibióticos inhibiendo el crecimiento de bacterias relacionadas con ellas, o también pueden generar ácido y descender el pH con lo que se consigue inhibir otras especies bacterianas y finalmente otro mecanismo es por la competitividad entre especies bacterianas por los nutrientes. (Heer, 2013, p.14)

### – Micrococos

Constituye la flora más abundante en la leche cruda, se trata de bacterias débilmente fermentadoras y con baja actividad enzimática por lo que no son relevantes como agentes adulteradores en leche, forma parte de la flora inofensiva que contamina a la leche cruda. (Celis y Juárez, 2009: p.14)

### – Estafilococos

Son microorganismos fuertemente fermentadores, de tipo anaerobios facultativos, trascendentales desde una perspectiva sanitaria. Son causantes de mastitis y ocasionan infecciones e intoxicaciones en humanos. Se distinguen las especies: *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*, éste último no se destruye con el tratamiento de pasteurización y produce una exotoxina que causa fuertes problemas intestinales en las personas. (Heer, 2013, p.14)

### – Bacterias Esporuladas

Son bacterias en forma de bacilos, aeróbicas, tienen una variada actividad enzimática generando acidificación, coagulación y proteólisis, resisten el proceso de pasteurización ya que sus esporas solamente se destruyen en temperaturas que sobrepasan los 100°C. Los clostridium son anaerobios estrictos, generan gas y ciertas especies como el *Clostridium botulinum*, originan toxinas patógenas en la leche cruda, pero su crecimiento se ve inhibido por bacterias lácticas. (Celis y Juárez, 2009: p.14)

## **Bacterias Gram negativas**

### – Enterobacterias

Son bacterias presentes en el intestino de mamíferos, por lo mismo su aparición en el agua y en la leche está ligada a contaminación de origen fecal. Es relevante desde el punto de vista sanitario debido a que varias de sus especies son patógenas como son: *Yersinia*, *E. coli*, *Shigella* y *Salmonella*; siendo la última la más perjudicial, sin embargo, todas son causantes de



enfermedades gastrointestinales. Son bacterias heterofermentativas, producen gas y generan sustancias viscosas con sabor desagradable, lo cual es negativo desde el ámbito tecnológico debido a que ocasiona alteraciones en la leche y derivados. Las Enterobacterias del grupo Coliformes, son habitualmente las más encontradas en productos lácteos, la especie *Escherichia coli* es la bacteria que se le relaciona directamente con contaminación fecal que puede ser originaria de una mala higiene del personal. (Celis y Juarez, 2009: p.15)

#### **– Acromobacterias**

Forman parte de la microflora psicrófila, misma que prolifera en leche almacenada a temperaturas bajas. Son bacterias aerobias, saprófitas y poseen una limitada actividad enzimática. Generan viscosidad en la leche y pueden ocasionar coloraciones o pigmentos anormales en la misma. Los géneros más destacados son: *Alcaligenes* y *Flavobacterium*. (Celis y Juarez, 2009: p.15)

#### **– Pseudomonas**

Este género supone más del 50 % del total de la flora Gram negativa presente en la leche cruda. Son psicrófilas y poseen un amplio poder proteolítico y lipolítico, pueden ser causantes de alteraciones en productos fabricados con leches pasteurizadas, ya que se ha indicado que varias de estas enzimas son resistentes a temperaturas extremas que superan los 80°C (Heer, 2013, p.15).

#### **– Brucella**

Son cocobacilos, intracelulares facultativos, estos microorganismos patógenos son responsables de causar brucelosis (*B. abortus*).

## – **Micobacterias**

Son bacilos de aspecto filamentosos, causantes de la tuberculosis, utilizan la leche cruda como vehículo y poseen cierta afinidad con los hongos.

### *1.3.1.2. Levaduras y Hongos.*

Varios géneros de mohos y levaduras son relevantes en la industria de los lácteos, se relaciona su presencia con condiciones higiénico-sanitarias deficientes, puesto que pueden causar afecciones y deterioros en los productos lácteos. Los hongos responsables de generar micotoxinas, son peligrosos, ya que estos metabolitos son termorresistentes; así también hongos de la leche como *Geotrichum candidum* u *Oospora lactis*, generan enzimas proteolíticas y lipolíticas que alteran la leche y sus derivados lácteos.

Desde el punto de vista positivo, ciertos hongos como *Penicillium candidum* son usados como cultivos lácteos para quesos madurados y otros como *Sacharomices kéfir*, son utilizados para elaborar bebidas lácteas como el kéfir. (Heer, 2013, p.18)

### *1.3.2. Fuentes de Contaminación de la leche.*

Desde el momento de la extracción, almacenamiento, transporte y hasta el arribo a la industria, la leche es susceptible a contaminación por varios factores. Los riesgos aumentan cuando la materia entra en contacto con las diversas superficies ya que éstas pueden estar contaminadas y las condiciones en las que son almacenadas resultan no adecuadas, permitiendo el desarrollo bacteriano. La contaminación que sufre la leche no es predecible totalmente, sin embargo se pueden ejecutar acciones preventivas que eviten este suceso, logrando una adecuada sanidad que asegure la inocuidad y calidad de los lácteos. Se distinguen dos tipos de contaminantes: Químicos y Biológicos. (Vitulich, 2011)

### *1.3.2.1. Contaminantes químicos*

Debido al manejo inadecuado de la leche en sus distintas etapas, desde el ordeño hasta su distribución, ésta puede contaminarse con agentes químicos como detergentes y desinfectantes, por contacto con los materiales utilizados o también por posibles adulteraciones con sustancias prohibidas por la regulación (Acosta et al., 2011, p.17). A continuación se presentan los más relevantes:

#### **– Medicamentos veterinarios**

Según el manual de procedimientos del CÓDEX ALIMENTARIUS (2015, p.24) se considera medicamento veterinario a cualquier sustancia administrada a un animal destinado a la producción de alimentos, ya sea con objetivos profilácticos, de diagnósticos o terapéuticos, para modificar su fisiología o comportamiento. Los residuos de estos medicamentos se presentan como: sustancias activas, metabolitos o incluso excipientes con actividad biológica, mismos que constituyen un riesgo químico en la leche cruda. Los medicamentos utilizados a nivel veterinario son: antimicrobianos, antiparasitarios, promotores de crecimiento, antiinflamatorios, etc. (Acosta et al., 2011, p.17)

#### **– Plaguicidas**

Son sustancias destinadas a prevenir o repeler plagas en la producción de alimentos o productos agrícolas, o son administrados en animales para destruir los ectoparásitos; por lo que pueden quedar residuos de éstos o sus metabolitos en alimentos, lo que constituye un peligro por su elevado grado de toxicidad en la salud de las personas. (CÓDEX ALIMENTARIUS, 2015, p.24)

#### **– Contaminantes Ambientales**

Dentro de estos contaminantes químicos se mencionan los metales pesados, furanos, dioxinas e hidrocarburos aromáticos policíclicos, estos últimos son provenientes de fuentes naturales o actividades antrópicas incluidos procesos industriales, actividades agrícolas y administración de

desechos, generando este tipo de contaminantes hacia el ambiente, lo que se puede conllevar a su incorporación en la leche. (Acosta et al., 2011, p.41)

#### 1.3.2.2. Contaminantes biológicos.

Son agentes de origen microbiano, que pueden afectar la leche en cualquier momento de su producción, esto depende de las medidas higiénico-sanitarias aplicadas durante la manipulación de la misma.

##### 1.3.2.2.1. Contaminación interna o inicial.

Este tipo de contaminación tiene relación interna con el estado del animal y las glándulas mamarias, puede darse por medio de dos vías:

#### – **Vía Ascendente**

Es inaudita la obtención estéril de la leche, así las condiciones sean adecuadas, ya que la anatomía de la ubre formada por conductos gruesos permiten el ingreso de microorganismos por vías ascendentes. El microorganismo que habitualmente está presente en las mamas es el *Streptococcus corynebacterium*. Por otra parte los microorganismos como *Corinebacterium pyogenes*, *Pseudomonas* y *E. coli* son causantes de mastitis, ya que se hallan en ubres infectadas, esto puede ser ocasionado por condiciones higiénicas deficientes durante el ordeño, por el ambiente exterior o la edad de la vaca debido a que mientras más viejas son, su susceptibilidad a infecciones es mayor. (Celis y Juarez, 2009: p.13)

#### – **Vía Endógena**

Las glándulas mamarias están proclives a infecciones por bacterias originarias de la sangre del animal, como es el caso del *Mycobacterium tuberculosis* (hominis y bovis) microorganismos resistentes en medios ácidos y elevadas temperaturas, los cuales son causales de la tuberculosis en las personas; o brucelosis provocado por *Brucella abortus* y *Brucella melitensis*. (Celis y Juarez, 2009: p.13)

#### 1.3.2.2.2. *Contaminación externa.*

La contaminación externa es originada por varios factores, entre los cuales se mencionan los más importantes.

##### **– Las ubres**

En el interior de las ubres la leche posee escasos microorganismos, pero al momento del ordeño la puede contaminarse con una gran cantidad de estos, provenientes de la suciedad de la ubre, estiércol o pelo del animal, incluso se puede afectar con microorganismos patógenos cuando la vaca está infectada con mastitis. (Solarte, 2011)

##### **– Los equipos y utensilios**

En el procesamiento de la leche, los utensilios y equipos utilizados acumulan ciertos microorganismos ya que no siempre son lavados y desinfectados adecuadamente luego de su uso, cuando estos son de madera pueden tener grietas que dificultan su limpieza y se vuelven aptos para la proliferación de los microorganismos. (Solarte, 2011)

##### **– El ordeñador**

El ordeñador juega un rol importante en la obtención de la leche, principalmente cuando el ordeño se realiza de forma manual, porque puede ser el responsable de la contaminación directa por la falta de higiene en la ejecución de todas las acciones que son llevadas a cabo por él.

##### **– El ambiente**

Las instalaciones y medio externo donde se desarrollan las actividades de ordeño deben tener buenas condiciones que eviten la contaminación de la leche, se recomienda que si no existe un ambiente idóneo para esta actividad, se la debería realizar en el pastizal y no en el establo, donde el nivel de contaminación es mucho mayor.

#### 1.4. Control de Calidad de la Leche.

La calidad de la leche, se refiere al ajuste y establecimiento de parámetros específicos, conformados por tres aspectos fundamentales: requisitos organolépticos, composición físico química y cualidades microbiológicas; las cuales deben ser controladas y comparadas con las normativas legales vigentes. (Vargas, 2000, p.1). Para que la materia prima sea procesada debe cumplir con los requisitos establecidos, debido a que la calidad de la leche cruda es el factor primordial de la calidad de los productos lácteos elaborados a partir de ella.

Dentro de los requisitos generales de la Norma NTE INEN 0009 (2012, p.2), se menciona que la leche cruda debe tener un aspecto normal y estar libre de calostro o sangre, además debe ser obtenida de vacas sanas que no presenten enfermedades infecto-contagiosas.

##### 1.4.1. Requisitos Organolépticos.

La leche debe presentar un color blanco opalescente o ligeramente amarillento; su olor debe ser suave y característico de los lácteos, es decir libre de olores extraños; el aspecto tiene que ser homogéneo y libre de elementos extraños. (NTE INEN 0009, 2012, p.2)

##### 1.4.2. Requisitos Físico-Químicos.

De acuerdo a la norma NTE INEN 0009 (2012, p.3) los requisitos físico químicos que debe cumplir la leche cruda, se indican en la Tabla 2-1.

**Tabla 2-1:** Requisitos físico-químicos de la leche cruda.

REQUISITOS	UNIDAD	MIN.	MAX.
Densidad relativa: a 15 °C A 20 °C	-	1,029 1,028	1,033 1,032
Materia grasa	% (fracción de masa)	3	-
Acidez titulable como ácido láctico	% (fracción de masa)	0,13	0,17

Sólidos totales	% (fracción de masa)	11,2	-
Sólidos no grasos	% (fracción de masa)	8,2	-
Cenizas	% (fracción de masa)	0,65	-
Punto de congelación (punto crioscópico)	°C °H	-0,536 -0,555	-0,512 -0,53
Proteínas	% (fracción de masa)	2,9	-
Ensayo de reductasa (azul de metileno)	h	3	-
Reacción de estabilidad proteica (prueba de alcohol)	Para leche destinada a pasteurización: No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 68 % en peso o 75 % en volumen; y para la leche destinada a ultrapasteurización: No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 71 % en peso o 78 % en volumen		
Presencia de conservantes	-	Negativo	
Presencia de neutralizantes	-	Negativo	
Presencia de adulterantes	-	Negativo	
Presencia de adulterantes	-	Negativo	
Grasas vegetales	-	Negativo	
Suero de Leche	-	Negativo	
Prueba de Brucelosis	-	Negativo	
RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS	ug/l	-	MRL, establecidos en el CODEX Alimentarius CAC/MRL 2

Fuente: (NTE INEN 0009, 2012)

#### 1.4.2.1. Densidad Relativa.

En la leche, los valores normales de densidad a una temperatura de 15°C, oscilan entre (1,029 a 1,033) g/ml. La presencia de los diversos constituyentes de la leche diluidos o no en el agua, es lo que determinan ésta propiedad física. La grasa es un componente que tiene una densidad muy similar a la del agua, mientras que el restante de sus compuestos presenta densidades por encima de 1. En base a ello, valores inferiores a la densidad normal, puede indicar adición de agua en la leche, mientras que, valores superiores significa probablemente que la leche tiene una concentración mínima de grasa o se trata de leche desengrasada. (Gaspar, 2010, p.4)

#### *1.4.2.2. Acidez Titulable.*

La leche cruda debe presentar una acidez de 0,13 a 0,17 %, su determinación es muy importante ya que puede indicar el grado de alteración de la misma. Valores de acidez menor al rango normal podrían mostrar que se trata de una leche originaria de vacas infectadas con mastitis, que está aguada o que tiene cierta sustancia química alcalina; mientras que los valores superiores a 0,17% indican que la leche está contaminada con bacterias. (UNAD, 2013, p.3)

#### *1.4.2.3. pH.*

El valor normal del pH en la leche cruda es de 6.5 a 6.7, se observan valores superiores en leches provenientes de vacas con mastitis, mientras que los valores inferiores están relacionados con la presencia de calostro o descomposición bacteriana. El método electrométrico es el más adecuado para su determinación, mediante uso de un electrodo de vidrio combinado con uno de referencia, se mide el potencial en términos de pH en la escala de un potenciómetro previamente calibrado con una solución de pH conocido (buffer). (Universidad del Zulia, 2003, p.13)

#### *1.4.2.4. Residuos de medicamentos veterinarios.*

En casos de mastitis y otros trastornos infecciosos, se administra al animal una gran cantidad de medicamentos con acción bactericida, como la ampicilina, penicilina G, tetraciclinas y sulfamidas. Estos antibióticos o sus metabolitos pueden llegar a la leche por el uso no adecuado de medicamentos administrados por vía intramuscular o vía intramamaria a través de alimentos medicamentosos. La presencia de residuos de estos medicamentos en la leche constituye un riesgo sanitario al consumidor, debido a que pueden aparecer reacciones alérgicas en personas sensibles, reacciones de carcinogenicidad cuando la exposición es prologada y desarrollar resistencias a los antibióticos. También representa un problema tecnológico ya que interfiere en el crecimiento de cultivos iniciadores en la elaboración de derivados lácteos como las leches fermentadas y el queso. (Periago Castón, 2011, p.31)



### 1.4.3. Requisitos Microbiológicos.

#### 1.4.3.1. Requisitos microbiológicos para leche cruda.

Según la norma NTE INEN 0009 (2012, p.3) los requisitos microbiológicos que debe cumplir la leche cruda, se indican en la Tabla 3-1.

**Tabla 3-1:** Requisitos microbiológicos de la leche cruda.

Requisitos	Límite máximo
Recuento de microorganismos aerobios mesófilos REP, UFC/cm <sup>3</sup>	1,5 x 10 <sup>6</sup>
Recuento de células somáticas/cm <sup>3</sup>	7,0 x 10 <sup>5</sup>

Fuente: (NTE INEN 0009, 2012)

#### 1.4.3.2. Requisitos microbiológicos para leche pasteurizada.

De acuerdo a la norma NTE INEN 0010 (2012, p.4) los requisitos microbiológicos que debe cumplir la leche pasteurizada, se mencionan en la Tabla 4-1.

**Tabla 4-1:** Requisitos microbiológicos para la leche pasteurizada.

Requisito	N	M	M	C
Recuento de microorganismos mesófilos, UFC/cm <sup>3</sup>	5	30 000	50 000	1
Recuento de coliformes, UFC/cm <sup>3</sup>	5	< 1	10	1
Detección de <i>Listeria monocytogenes</i> /25 g	5	0	-	0
Detección de <i>Salmonella</i> /25 g	5	0	-	-
Recuento de <i>Escherichia coli</i> , UFC/g	5	< 10	-	0

n: número de muestras a analizar  
m: límite de aceptación  
M: límite superando el cual se rechaza  
c: número máximo de muestras admisibles con resultados entre m y M.

Fuente: (NTE INEN 0010, 2012)

## 1.5. Derivados Lácteos.

Según la publicación de producción y productos lácteos que menciona la FAO (2013), existe en el mercado una gran variedad de derivados lácteos entre los cuales tenemos:

– **Leche líquida.**- Es el lácteo de mayor consumo, elaboración y comercialización. La leche puede ser: pasteurizada, desnatada, normalizada, reconstituida, de larga conservación (UHT) y enriquecida.

– **Leches fermentadas.**- obtenidas a partir de la fermentación de la leche, por medio del inóculo de microorganismos adecuados hasta llegar al nivel deseado de acidez, se trata de productos como yogur, kumys, dahi, laban, ergo, tarag, ayran, kurut y kefir.

– **Quesos.**- se elaboran por medio de la coagulación de la caseína (proteína de la leche), se puede obtener una gran variedad de quesos, esto depende de la composición de la leche y sus tipos, del proceso de elaboración aplicado y de los microorganismos que se utilice; muchos son característicos de la región donde son elaborados. Entre los distintos tipos de queso tenemos: duros, semiduros, blandos madurados o no madurados.

– **Mantequilla y Ghee (mantequilla clarificada).**- se trata de derivados grasos de la leche. La mantequilla se elabora a partir del batido de la nata o leche, y en algunos países de la leche entera agria; por otra parte el ghee es obtenido mediante la eliminación del agua de la mantequilla.

– **Leche condensada.**- elaborada a partir eliminación del agua de la leche desnatada o entera, esta eliminación es parcial. Puede ser edulcorada o no, y en su obtención se lleva a cabo un tratamiento térmico y concentración en la materia prima.

– **Leche evaporada.**- obtenida por la eliminación de manera parcial del agua de la leche desnatada o entera, pasa por un tratamiento térmico para asegurar que la leche sea estable e inocua.

– **Leche en polvo.**- se trata de leche deshidratada y se elabora en forma de polvo o gránulos.

– **Nata.-** es rica en materia grasa, elaborada por la descremación o centrifugación de la leche. Se distinguen los siguientes tipos de nata: re combinada, reconstituida, preparada, líquida preenvasada, para batir, envasada a presión, montada o batida, fermentada y acidificada.

– **Sueros.-** constituye el líquido resultante de la separación de la cuajada en la elaboración del queso, tiene múltiples aplicaciones para consumo humano, las principales son: queso de suero, bebidas a base de suero y suero fermentado; industrialmente es utilizado para la fabricación de lactosa, pasta de suero y suero en polvo.

## **1.6. Queso.**

### **1.6.1. Definición.**

La norma general NTE INEN 1528 (2012, p.1) define al queso como: *“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”*, es obtenido por medio de:

- a) Coagulación sea parcial o total de la proteína de la leche (caseína), leche descremada total o parcial, crema, crema de leche o suero, de mantequilla o de una combinación cualquiera de estos, por la función que ejerce el cuajo u otros coagulantes, y por eliminación parcial del suero resultante de dicho proceso de coagulación , respetando el fundamento de que la obtención de queso da lugar a una concentración de proteína láctea (principalmente la caseína), el contenido de proteína en el queso debe ser ciertamente más alto que el contenido de proteína de la mezcla total de los componentes lácteos mencionados previamente; y/o
- b) Métodos de elaboración que permiten la coagulación de la proteína de la leche y/o de derivados obtenidos de la leche que generan un producto final, el cual presenta las mismas características físico-químicas y organolépticas que presenta el producto definido en el literal a).

### 1.6.2. Clasificación.

De acuerdo a la normativa NTE INEN 0062 (1974, pp.1-2) los quesos se clasifican y se designan como se indica en la Tabla 5-1.

**Tabla 5-1:** Clasificación y designación de los quesos.

<b>De acuerdo con su dureza</b>	
<b>Duros</b>	El contenido de humedad sin materia grasa es $\leq 55$ %.
<b>Semiduros</b>	El contenido de humedad sin materia grasa es $> 55$ % y $< 65$ %.
<b>Blandos</b>	El contenido de humedad sin materia grasa es $\geq 65$ %.
<b>De acuerdo con su contenido de materia grasa</b>	
<b>Ricos en grasa</b>	El contenido de grasa en el extracto seco es $\geq 60$ %.
<b>Extragrasos</b>	El contenido de grasa en el extracto seco es $< 60$ % y $\geq 45$ %.
<b>Semigrasos</b>	El contenido de grasa en el extracto seco es $< 45$ % y $\geq 25$ %.
<b>Pobres en grasa</b>	El contenido de grasa en el extracto seco es $< 25$ % y $> 10$ %.
<b>Desnatados</b>	El contenido de grasa en el extracto seco es $\leq 10$ %
<b>De acuerdo con sus características de maduración</b>	
<b>Maduros</b>	No están listos para el consumo poco después de su elaboración y deben mantenerse durante un tiempo determinado en condiciones tales que se originen los necesarios cambios característicos físicos y químicos por todo su interior y/o sobre su superficie.
<b>Sin madurar</b>	Están listos para el consumo poco después de su fabricación y no requieren de cambios físicos o químicos adicionales.

Fuente: (NTE INEN 0062, 1974)

### 1.7. Queso Fresco.

#### 1.7.1. Definición.

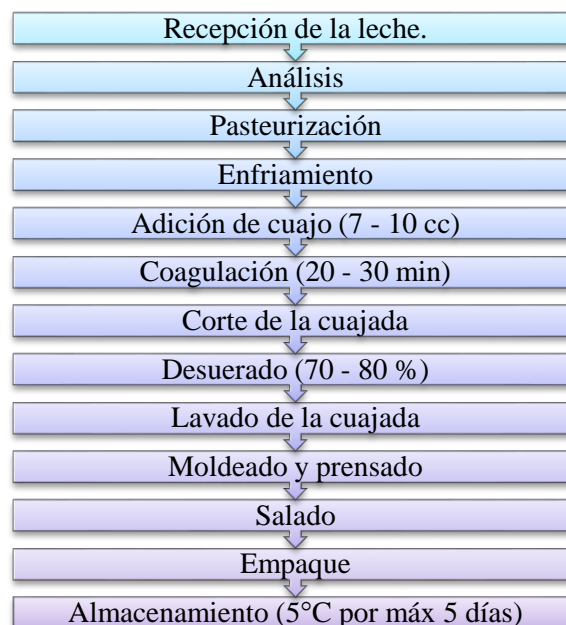
Se lo denomina también como queso blanco y define como: “queso no madurado, ni escaldado, moldeado, de textura relativamente firme, levemente granular, preparado con leche entera, semidescremada, coagulada con enzimas y/o ácidos orgánicos, generalmente sin cultivos lácticos”. (NTE INEN 1528, 2012)

### 1.7.2. Composición química y valor nutricional.

El queso posee de manera concentrada la mayor parte de los componentes de la leche, con excepción de la lactosa, esto ocurre por la eliminación parcial o total de agua en el proceso de elaboración del queso. Químicamente el queso presenta alrededor de un 60% de humedad, supone del 17 al 21% de proteína, aproximadamente 19% de materia grasa, un 2% de carbohidratos y 2% de sales minerales.

Las propiedades nutricionales son similares a las de la leche, con la distinción que contiene mayor cantidad de materia grasa y proteínas concentradas lo que le caracteriza como alimento de elevado valor nutricional, además aporta todos los aminoácidos esenciales en las proporciones adecuadas. El queso es muy rico en minerales como fósforo, selenio y principalmente calcio, ya que su aporte es de 185 mg por cada 100 g de queso; constituye también un producto lácteo con gran cantidad de vitaminas como son la vitamina A, D y del grupo B. (Licata, 2013)

### 1.8. Proceso de elaboración del queso fresco.



**Gráfico 1-1: Esquema de elaboración del queso**

Fuente: (FAO, 2010, p.15)

Se detalla a continuación el proceso de elaboración del queso, descrito en la ficha técnica de procesados lácteos según FAO (2010, pp.15-16)

– **Recepción de la leche.**- Se debe utilizar una tela fina para filtrar la leche y así sean retenidos y eliminados los cuerpos extraños.

– **Análisis.**- Se debe realizar principalmente pruebas de: antibióticos, acidez, porcentaje de materia grasa, análisis de las características organolépticas.

– **Pasteurización.**- es un tratamiento térmico realizado para destruir microorganismos patógenos y conservar las propiedades nutricionales de la leche. Se realiza generalmente a una temperatura de 65°C durante 30 minutos. En ésta etapa se debe adicionar cloruro de calcio en un porcentaje aproximado de 0.02-0.03% por cada 100 litros de leche.

– **Enfriamiento.**- La leche pasteurizada se debe enfriar hasta que llegue a una temperatura de 37-39 °C.

– **Adición del cultivo láctico.**- Es necesario añadir un cultivo láctico de bacterias seleccionadas en un porcentaje de 0.3% cuando la leche es pasteurizada.

– **Adición de cuajo.**- Por cada 100 litros de leche se debe añadir cuajo líquido en una porción de 7 a 10 cc, o a su vez 2 pastillas de cuajo, posteriormente se agita durante 1 minuto la leche con el fin de disolverlo y se deja reposar durante 20 a 30 minutos a 38 - 39°C de temperatura.

– **Corte de la cuajada.**- Con la ayuda de una lira o cuchillos se lleva a cabo el corte de la masa cuajada, en forma de pequeños cuadros de manera que pueda salir la máxima cantidad de suero. Para facilitar la expulsión del suero la cuajada debe batirse, esta acción de corte y batido dura 10 minutos y el reposo de la masa 5 minutos.

– **Desuerado.-** En esta operación se deja escurrir el suero por medio de un colador situado en el desagüe de la marmita donde se hizo el proceso de cuajado, debe separarse aproximadamente del 70 al 80% del suero; y se lo debe recoger en un recipiente.

– **Lavado de la cuajada.-** este proceso se realiza con el fin de descartar residuos del suero y evitar la proliferación de bacterias dañinas en el queso.

– **Moldeado y prensado.-** se llena con la cuajada los moldes de acero inoxidable o plástico PVC previamente cubiertos con un lienzo y se los coloca en la prensa hasta que se encuentren más compactados, posteriormente se desmolda el queso retirando los lienzos.

– **Salado.-** este proceso puede hacerse en seco o por sumersión del queso en baño de salmuera (mezcla constituida por agua y sal en grano), lo que tiene como función brindar sabor al queso a más de ser una técnica de conservación y actuar en la formación de la corteza y complementar la eliminación del suero.

– **Empaque.-** se debe utilizar un material que impida el paso de la humedad, usualmente se utiliza envase plástico.

– **Almacenamiento.-** Es fundamental almacenar en refrigeración a una temperatura de 5°C para evitar el crecimiento de bacterias y mantener las características adecuadas del queso fresco. El queso no debe mantenerse almacenado hasta más de 5 a 7 días.

### **1.9. Calidad del Queso Fresco.**

Se entiende como calidad al conjunto de propiedades y características de un producto que le confieren la capacidad de cumplir con requisitos establecidos para satisfacer las expectativas y necesidades del consumidor. Para la elaboración de un queso de calidad es fundamental utilizar la materia prima también de excelente calidad, es decir la leche debe provenir de una vaca sana y alimentada adecuadamente, además ésta debe pasar por un tratamiento térmico como es la pasteurización para garantizar la muerte de microorganismos patógenos.

La calidad higiénico sanitaria del queso se puede ver afectada por la falta de higiene en los procesos de elaboración debido a la manipulación a la que es sometida el producto, por ello es importante que las condiciones donde se desarrolla el queso sean adecuadas, así como sus equipos, utensilios y materiales. Es fundamental que los manipuladores cumplan con medidas higiénicas recomendadas para evitar contaminación al producto. (PROFECO, 2000, p.1)

La calidad sanitaria del queso se evidencia en que el producto no debe presentar microorganismos patógenos como son los *Coliformes totales*, *Listeria monocytogenes*, *Coliformes fecales*, *Salmonella*, *Brucella abortus*, entre otros, los cuales son causantes de infecciones e intoxicaciones alimentarias. También es indispensable que el queso se encuentre libre de materias o agentes extraños, restos de antibióticos o sus metabolitos y sustancias químicas, que pongan en riesgo la calidad e inocuidad del queso, y aún más, comprometan la salud del consumidor.

### 1.9.1. Control de calidad del queso fresco

#### 1.9.1.1. Requerimiento microbiológico de quesos frescos no madurados

Se presenta en la Tabla 6-1, los requisitos microbiológicos que deben cumplir los quesos frescos no madurados de acuerdo a la normativa NTE INEN 1528 (2012, p.4).

**Tabla 6-1:** Requisitos microbiológicos para quesos frescos no madurados.

Requisito	N	M	M	C
Enterobacteriaceae, UFC/g	5	$2 \times 10^2$	$10^3$	1
<i>Escherichia coli</i> , UFC/g	5	<10	10	1
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g	5	10	$10^2$	1
<i>Listeria monocytogenes</i> /25 g	5	Ausencia	-	
<i>Salmonella</i> en 25g	5	Ausencia	-	0

n: número de muestras a analizar  
m: límite de aceptación  
M: límite superando el cual se rechaza  
c: número máximo de muestras admisibles con resultados entre m y M.

Fuente: (NTE INEN 1528, 2012)



## **1.10. Microorganismos indicadores de contaminación en leche, queso y salmuera.**

En algunos de los casos el queso se realiza con leche cruda contaminada o puede ocurrir una contaminación después de la pasteurización, si la leche contiene patógenos y estos sobreviven en el proceso de elaboración, se convierten en causantes de infecciones e intoxicaciones alimentarias. Se considera a la *Escherichia coli*, y *coliformes fecales* como microorganismos que indican una manipulación no higiénica de los alimentos, mientras que especies de los géneros *Salmonella*, *Clostridium botulinum* y *Staphylococcus aureus* son patógenos de toxico - infecciones transmisibles por alimentos. (Lanchipa y Sosa, 2003: pp.7-8)

### **1.10.1. Aerobios mesófilos**

Son microorganismos que para su supervivencia dependen del oxígeno y al ser mesófilos su temperatura adecuada para su proliferación es de 30°C a 37°C. Su determinación expresa la calidad sanitaria del producto y la situación higiénica de la materia prima, así como el modo de manipulación en la cadena de producción. Con el recuento de aerobios mesófilos se tiene un estimado del total de la flora, sin embargo, no se especifica el tipo de microorganismo presente; si su recuento final es bajo no necesariamente es indicativo que el producto lácteo esté libre de gérmenes patógenos o sus toxinas, por otra parte, si el contaje es elevado tampoco significa que ineludiblemente en el producto exista flora patógena. El hecho de que se encuentren presentes en alimentos puede ser indicativo que la materia prima tiene mucha contaminación, las técnicas de manipulación durante el proceso de elaboración de queso no fueron correctos, o pueden estar presentes entre ellos microorganismos patógenos ya que estos suelen ser de tipo mesófilos; finalmente cabe mencionar que recuentos elevados o que sobrepasen tasas mayores a  $10^6 - 10^7$  UFC/g suele alerta de un inicio de descomposición. (Pascual y Calderón, 1999: p.13)

### **1.10.2. Coliformes**

Son microorganismos gram negativos, no esporulados, aerobios facultativos, se presentan en forma de bacilos, proliferan en un amplio rango de temperatura entre 10°C y 46°C y fermentan la lactosa con formación de gas. En métodos normalizados se emplea con abundancia recuentos de *coliformes totales*, *coliformes fecales* y *Escherichia coli*, ya que por tratarse de patógenos entéricos, son indicativos de contaminación del producto con materia fecal por lo que no se admite

su presencia en los alimentos. Su presencia produce alteraciones del producto reflejadas en sabores desagradables, amargos o presencia de mucosidades. (Frazier y Westhoff, 1978: pp.274-276)

Según lo descrito en el manual de microbiología básica y de alimentos de Olivas y Alarcón (2004: pp.83-84) la presencia de Coliformes en alimentos se interpretan de la siguiente manera en microbiología sanitaria: como indicadores de una mala manipulación de los alimentos y contaminación fecal, como microorganismos causales de alteración de los productos y como agentes etiológicos de enteritis.

### ***1.10.3. Escherichia coli***

Es un microorganismo casi exclusivamente de origen fecal, por lo que constituye un indicador fundamental para detectar la contaminación fecal en la evaluación higiénica y sanitaria de los alimentos. Se puede transmitir mediante contaminación cruzada o a través de contacto humano durante la manipulación no higiénica en la elaboración de los productos; los factores que aportan en la persistencia de este patógeno en los sistemas alimentarios son la falta de control de ciertos parámetros durante el proceso como son la temperatura de cocción, pH, actividad de agua y almacenamiento a temperaturas elevadas que permiten la proliferación de estas bacterias.

El germen puede producir toxinas responsables de enfermedades graves, por lo mismo es importante que las personas que manipulan el producto eviten la contaminación de este, por lo cual deben ceñirse al “*Código Internacional Recomendado de Prácticas - Principios Generales de Higiene de los Alimentos del Codex Alimentarius*”. (FAO, 2011, pp. 4-13)

### ***1.10.4. Staphylococcus aureus***

Si el microorganismo se presenta en los alimentos, este pudo provenir la boca, nariz o piel del personal que manipula el producto, por lo tanto su presencia en el queso en cantidades elevadas es un indicativo de una inadecuada temperatura y condiciones sanitarias deficientes. Generalmente el alimento puede ser susceptible de contaminación al ser manejado por personal que no trabajen de una manera higiénica adecuada, ya que aproximadamente 40% de los adultos poseen este tipo de bacterias en la nariz, garganta y manos. También el germen puede venir de reservas representativas de cepas enterotoxigénicas de *Staphylococcus aureus*, originarios de leche procedente de ganado vacuno infectado con mastitis. Por lo tanto el microorganismo puede

ser causal de infecciones estafilocócicas que se caracterizan por malestares gastrointestinales como náuseas, vómitos, diarrea, etc. (Lanchipa y Sosa, 2003: p.10)

### **1.11. Quesera Artesanal.**

Se entiende como quesería artesanal al establecimiento que dedica a la elaboración de quesos con leche procedente de un plantel propio, y donde su producción implica cuantioso trabajo manual, habitualmente con un proceso discontinuo o no de elaboración y manejo de poco volumen de materia prima (leche cruda), éstas surgieron de manera masiva y se han solidificado como pequeñas y medianas empresas especializadas en la obtención de queso. (Busetti y Langbehn, 2002; Jirón y Aburto, 2007)

El queso artesanal es elaborado en plantas queseras familiares con materia prima producidas en el mismo lugar donde se fabrica este lácteo y cuya producción diaria no exceda los 500 litros, la palabra artesanal o artesano implica que el queso es realizado principalmente a mano, en lotes pequeños. Estos quesos pueden ser fabricados tomando como partida cualquier tipo de leche y pueden incluir varios sabores. (Dominguez, 2011, p.169)

En los últimos años los productos tradicionales y artesanales han ido incrementando su popularidad, siendo su producción una estrategia para el progreso de productores del sector rural del país. El vocablo artesanal es aplicado a alimentos pero habitualmente el análisis de estos se orienta desde una punto de vista cultural, económico y social por lo que no se considera estándares oficiales a los cuales debe regirse, ya que se ve necesario el cumplimiento de requisitos tanto físico químicos, como microbiológicos que garanticen la inocuidad del alimento, sin embargo la legislación en su mayoría está diseñada para productos industrializados y estandarizados. (Dominguez, 2011, p.169)

En base a lo mencionado en el apartado anterior, en el año 2015 la Agencia Nacional de Regulación, Vigilancia y Control Sanitario (ARCSA) ha presentado una resolución dirigida a establecimientos procesadores de alimentos categorizados como Artesanales y Organizaciones del Sistema de Economía Popular y Solidaria.

## **1.12. Prácticas Correctas de Higiene (PCH).**

Se entiende como prácticas correctas de higiene a la “*aplicación de todas las condiciones y medidas necesarias para asegurar la inocuidad y la aptitud de los alimentos en todas las fases de la cadena alimentaria.*” (ARCSA, 2015, p.9)

En base a la necesidad de legislación para establecimientos artesanales, la Agencia Nacional de Regulación, Vigilancia y Control Sanitario ha emitido resolución ARCSA-DE-057-2015-GGG, donde se establecen requerimientos para la obtención del registro sanitario de los alimentos procesados, así como permiso de funcionamiento y las prácticas correctas de higiene (PCH) en la cadena de producción, elaboración, envasado, almacenamiento, distribución, transporte y comercialización de productos alimenticios nacionales, con el fin de garantizar la higiene de estos y proteger la salud del consumidor. Los requisitos establecidos se dirigen a los siguientes puntos:

- Ubicación del establecimiento (artículo 4).
- Construcción y disposición de las instalaciones (artículo 5).
- Estructuras internas y mobiliario (artículo 6).
- Los equipos, recipientes y utensilios (artículo 7).
- Control de equipos (artículo 8).
- Recipientes para residuos y sustancias no comestibles (artículo 9).
- Servicios (artículo 10), dentro de los cuales abarca: Abastecimiento de agua, agua no potable, hielo, vapor de agua, drenaje y eliminación de residuos, servicios higiénicos, área de limpieza, control de la temperatura, calidad del aire y ventilación, iluminación, instalaciones eléctricas y redes de agua
- Requisitos relativos a las materias primas (artículo 11).
- Contaminación cruzada (artículo 12)
- Higiene del personal (artículo 13), dentro de él abarca: Estado de salud, aseo personal, comportamiento personal, visitantes.
- Capacitación (artículo 14), se debe cumplir con requisitos como: Conocimientos y responsabilidades, programas de capacitación.

- Control de las operaciones (artículo 15).
- Procedimientos y métodos de limpieza (artículo 16).
- Almacenamiento (artículo 17).
- Empaque (artículo 18).
- Control de plagas (artículo 19).
- Transporte (artículo 20).
- Documentación y registros (artículo 21).
- Permiso de funcionamiento (artículo 22,23).
- Registro Sanitario (artículo 24, 25, 26).
- Inspecciones para las actividades de vigilancia y control (artículo 27, 28, 29, 30, 31).
- Inspección de prácticas correctas de higiene (artículo 32,33, 34, 35, 36, 37, 38, 39).



## **2.2. Factores de estudio.**

### **2.2.1. Población.**

La población de estudio es la Quesera Artesanal COD. Q4 ubicada en la parroquia Quimiag, cantón Riobamba, provincia de Chimborazo, donde se recolectará las muestras necesarias para el análisis.

### **2.2.2. Muestra.**

Las muestras seleccionadas para el análisis microbiológico fueron tomadas por duplicado en tres muestreos aleatorios realizados en tres días diferentes de producción durante dos semanas, las muestras recolectadas fueron de: leche cruda, leche pasteurizada, suero, salmuera, queso, ambiente y superficies vivas e inertes, las cuales se tomaron en el establecimiento artesanal COD.Q4.

Para cada día de muestreo, en el caso de las muestras líquidas se tomó 2 frascos de 250 mL, para el análisis del queso fresco se tomó 2 unidades de 800 mg del primer lote de producción (60 unidades), 2 muestras de cada zona de ambiente evaluado (recepción, producción, cuarto frío y servicio higiénico) y 2 muestras de las 11 superficies inertes seleccionadas, además una muestra de la mano de cada manipulador.

## **2.3. Materiales, Equipos y Reactivos.**

### **2.3.1. Muestras**

- Leche cruda
- Leche pasteurizada
- Queso fresco
- Suero
- Salmuera
- Ambiente (Zona de recepción, zona de producción, cuarto frío, servicio higiénico).

- Superficies (Marmita, mesa, molde, prensa, lira, agitador, malla, balde, gaveta, termómetro, funda)
- Manipuladores ( hisopado de manos, muestras biológicas de sangre y heces)

### **2.3.2. Análisis físico-químicos.**

#### **a. Materiales**

- Matraz Erlenmeyer 100 mL
- Probeta 250 mL
- Vaso de precipitación 500 mL
- Bureta 25 mL
- Pinza para bureta
- Soporte universal
- Lactodensímetro
- Termómetro
- Micro pipeta 200  $\mu$ L
- Puntas plásticas amarillas.

#### **b. Reactivos**

- Agua destilada
- Fenolftaleína
- Hidróxido de sodio 0,1 N
- Test Tri sensor (Micropocillos y varillas de membrana)

#### **c. Equipos**

- Balanza analítica
- Baño de María



### 2.3.3. *Análisis microbiológicos*

#### a. **Materiales**

- Hisopos de algodón, estériles.
- Plantilla estéril con un área avienta en el centro de 25cm<sup>2</sup> (5cm x 5cm)
- Frascos estériles 250 ml
- Puntas plásticas azules
- Papel aluminio
- Gradilla
- Cajas mono y bi petri
- Cooler de espuma flex.
- Hielo Gel refrigerante
- Algodón
- Tubos de ensayo con tapa hermética 10 mL
- Probeta 100 mL
- Matraz Erlenmeyer 500 mL
- Pipeta graduada 10 mL
- Espátula
- Micro pipeta 1000 µL
- Lámpara de alcohol
- Asa de siembra
- Varilla de Cristal en forma de L
- Pera de succión

#### b. **Reactivos**

- Agua destilada
- Aceite de inmersión
- Kit para tinción Gram: cristal violeta, lugol, acetona y safranina.

### **c. Medios de cultivo**

- Agua de Peptona Tamponada
- Agar para métodos estándar (PCA)
- Agar Sabouraud con Cloranfenicol
- Agar Manitol Salado
- 3M Placas Petrifilm™ para *E. coli* y Coliformes Totales
- 3M Placas Petrifilm™ para Enterobacterias
- 3M Placas Petrifilm™ para *Staphylococcus aureus*

### **d. Equipos**

- Reverbero
- Balanza analítica
- Cámara de flujo laminar
- Autoclave
- Incubadoras ( 25°C, 35°C y 37°C )

## **2.4. Metodología**

### **2.4.1. Levantamiento de la línea base**

Con la colaboración del GAD municipal de Quimiag se realizó la socialización del proyecto de investigación, donde la Quesera artesanal COD.Q4 accedió a la evaluación higiénico-sanitaria de su establecimiento, durante varias visitas se ejecutó un levantamiento de información sobre la quesera con la ayuda de hojas de recolección de datos (Anexo B) presenciando la realidad de todo el procedimiento en la elaboración del queso fresco y se realizó un sondeo para determinar los puntos clave donde se tomarían las muestras, a más de una observación de la estructura, instalaciones y proceso para valorar el cumplimiento de las prácticas correctas de higiene mediante listas de verificación.

#### **2.4.2. Verificación de las Prácticas Correctas de Higiene**

Se elaboró una lista de verificación de las Prácticas Correctas de Higiene - PCH (Anexo A) , para evaluar el porcentaje de cumplimiento de las mismas en la Quesera artesanal COD.Q4, basada en los requisitos establecidos en la resolución 057-2015-GGG emitida por la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria - ARCSA, la misma que está dirigida a establecimientos procesadores de alimentos categorizados como Artesanales y Organizaciones del Sistema de Economía Popular y Solidaria.

#### **2.4.3. Toma y transporte de muestras**

El plan de muestreo se realizó en base a la normativa técnica ecuatoriana de la toma, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológico. (NTE INEN 1529-2, 1999)

Se realizaron 3 muestreos en el establecimiento artesanal durante 2 semanas, donde se acudió a las 7:00 a.m., hora en la que iniciaba la recolección de materia prima y elaboración del queso, y bajo procedimientos asépticos adecuados se realizó la toma de las muestras establecidas y se las transporto hacia el laboratorio de Análisis Bioquímico y Bacteriológico de la ESPOCH en un cooler de espuma flex en condiciones de temperatura de refrigeración de 0°C – 10°C, con la ayuda de hielo gel refrigerante. Cabe recalcar que los instrumentos empleados en el proceso de muestreo se encontraban limpios, secos y esterilizados.

##### **2.4.3.1. Muestreo de leche cruda, leche pasteurizada, suero y salmuera**

- Se homogenizó las muestras en sus respectivos recipientes con la ayuda de un agitador mecánico o manual durante 5 minutos.
- Se procedió a abrir el envase estéril y tomar la muestra por duplicado de leche cruda, pasteurizada, suero y salmuera.
- Se cerró herméticamente los envases evitando derrames, luego se rotuló para identificar las muestras respectivas.

– Se colocó los envases con las muestras recolectadas dentro del cooler y se las trasladaron inmediatamente al laboratorio para sus análisis microbiológicos y análisis físico-químico en el caso de leche y suero. (NTE INEN 1529-2, 1999, pp.7-8)

#### *2.4.3.2. Muestreo del queso*

– Se tomó muestras al azar de 2 quesos frescos recién elaborados y empacados, del primer lote de 60 quesos, de un total de producción diaria de 240 quesos frescos.

– Se colocaron en fundas estériles y posteriormente en el cooler con hielo gel para mantener la temperatura entre 0°C y 5°C, y proteger las muestras de la luz y contacto con el aire o fuentes de contaminación.

– Las muestras fueron transportadas inmediatamente al laboratorio para su análisis. (NTE INEN 1529-2, 1999, p.9)

#### *2.4.3.3. Muestreo de superficies vivas e inertes.*

En cada una de las 3 repeticiones, se tomó doble muestra de las siguientes superficies inertes: marmita, mesa, molde, prensa, malla, gaveta y funda; y una muestra de las superficies de: balde, lira, agitador, termómetro y mano de los manipuladores (consideradas superficies vivas que entran en contacto con los alimentos, utensilios y equipos en la cadena de elaboración).

##### *2.4.3.3.1. Procedimiento:*

– Se colocó la plantilla estéril (5cm x 5 cm) sobre las superficies regulares a muestrear.

– Se humedeció el hisopo en la solución diluyente estéril de agua de peptona (5mL) y se presionó ligeramente en las paredes del tubo con movimientos de rotación para retirar el exceso de solución.

– Se debe sostener el hisopo inclinado formando un ángulo de 30° con la superficie a muestrear.

– Se procedió a frotar de manera lenta el hisopo, totalmente de derecha a izquierda, de arriba hacia abajo y de forma diagonal sobre la superficie deseada (superficies inertes regulares), y se repitió 3 veces más ésta acción en el caso de superficies inertes irregulares.

- En el caso de las superficies vivas (manos del manipulador), se frotó con el hisopo de modo lento y totalmente en la parte anterior y posterior de la mano, tomando en cuenta los pliegues.
- Al completar el muestreo de cada superficie, se insertó el hisopo nuevamente en la solución diluyente, quebrando la parte del mango que estuvo en contacto con los dedos del analista, la cual debe ser eliminada. Se cerró herméticamente los tubos con las muestras.
- Posteriormente se colocó en una gradilla, dentro del cooler con gel refrigerante asegurando que la temperatura no sea superior a 10°C, con el fin de garantizar la conservación de la muestra, hasta el arribó al laboratorio de análisis. (MINSa, 2007, pp. 2-7)

#### 2.4.3.3.2. Cálculos:

En el caso de superficies regulares se utiliza la fórmula indicada a continuación, los resultados serán expresados en UFC/cm<sup>2</sup>.

$$UFC/cm^2 = (UFC \times \text{Factor de dilución} \times \text{Vol diluyente}) / \text{Superficie muestreada}$$

$$UFC/cm^2 = (UFC \times 1mL \times 5mL) / 25 cm^2$$

Para superficies irregulares debe utilizarse la fórmula que se indica a continuación, los resultados serán expresados en UFC/superficie muestreada. (MINSa, 2007, pp. 2-7)

$$UFC/Superficie = (UFC \times \text{Factor de dilución} \times \text{Vol diluyente}) / \text{Superficie muestreada}$$

$$UFC/cm^2 = (UFC \times 1mL \times 5mL) / \text{Superficie}$$

#### 2.4.3.4. Muestreo del ambiente

Se realizó el método de sedimentación de microorganismos en placa, el proceso se describe a continuación.

#### 2.4.3.4.1. Procedimiento:

- Se prepararon cajas Petri con 15-20 mL de agar para métodos estándar.
- Se colocó dos cajas en cada una de zonas de muestreo establecidas (recepción, producción, cuarto frío y servicio higiénico).
- Se procedió a abrir la caja teniendo cuidado de no tocar la superficie de la base que contiene el PCA.
- Se dejó expuesta la caja al ambiente durante un lapso de tiempo de 20 minutos.
- Se cerró cuidadosamente la caja, para evitar que sea contaminada.
- Se rotuló e identificó las muestras respectivas, para ser colocadas en el cooler con hielo gel refrigerante.
- Se transportaron las muestras para su análisis, determinación de aerobios mesófilos. (Bogomolova y Kirtsideli, 2009: p.157)

#### 2.4.3.4.2. Cálculos:

Para determinar la concentración microbiana del aire, se realizó el cálculo según la ecuación descrita por Omeliansky, el resultado será expresado en UFC/m<sup>3</sup>de aire. (Bogomolova y Kirtsideli, 2009: p.157)

$$N = 5a \times 10^4 (b \times t)^{-1}$$

Dónde:

N = concentración microbiana en UFC/m<sup>3</sup>,

a = número de colonias por placa Petri,

b = es la superficie de la placa ( $r^2 \times \pi$ ) expresada en cm<sup>2</sup>

t = tiempo de exposición en minutos.

Por lo tanto, en este caso la ecuación utilizada fue de la siguiente manera:

$$UFC/m^3 = (5 \times UFC \times 10^4) / (63,62 \text{ cm}^2 \times 20 \text{ min})$$

#### *2.4.3.5. Muestreo de manipuladores*

Al personal manipulador de los alimentos se le tomó la muestra mediante hisopado de manos (superficies vivas), descrita anteriormente en el apartado 2.4.3.3. Para superficies vivas debe utilizarse la fórmula que se muestra a continuación, los resultados serán expresados en UFC/superficie muestreada, en este caso manos del manipulador. (MINSA, 2007, pp. 2-7)

##### *2.4.3.5.1. Cálculos:*

$$UFC/Manos = (UFC \times \text{Factor de dilución} \times \text{Vol diluyente})/Manos$$

$$UFC/manos = (UFC \times 1mL \times 5mL)/Manos$$

#### **2.4.4. Análisis Físico-químicos**

##### *2.4.4.1. Densidad relativa.*

La determinación de la densidad relativa se realizó en base a la norma NTE INEN 0011 (1984, pp.1-2 ) por medio del método del lactodensímetro basado en el uso de un densímetro graduado.

##### *2.4.4.1.1. Procedimiento:*

- Verter la muestra en la probeta hasta llenarla por completo, manteniéndola inclinada para impedir que se forme espuma.
- Colocar la probeta en un baño de agua hasta estabilizar la temperatura, determinar su valor con la ayuda de un termómetro.
- Introducir suavemente el lactodensímetro hasta que esté en equilibrio y no se adhiera a los bordes de la probeta. En la inmersión debe desbordarse la muestra de modo que la zona de lectura del lactodensímetro quede sobre el plano superior de la probeta.

– Esperar que el lactodensímetro quede en reposo completamente y sin topar las paredes de la probeta y leer la medida de la graduación indicada en el menisco superior y registrar su valor. (NTE INEN 0011, 1984, pp.1-2 )

#### 2.4.4.1.2. Cálculos:

La densidad relativa a [20/20 °C], se calcula por medio de la ecuación que se indica a continuación. (NTE INEN 0011, 1984, pp.1-2 )

$$d_{20} = d + 0,0002 (t - 20)$$

Dónde:

$d_{20}$  = densidad relativa a 20/20 °C,

$d$  = densidad aparente a  $t$  °C,

$t$  = temperatura en °C, de la muestra durante la determinación.

#### 2.4.4.2. Acidez titulable.

La determinación de la acidez titulable se realizó mediante procedimientos de la norma NTE INEN 0013 (1984, pp.1-3), la acidez es expresada como contenido de ácido láctico y se titula con una solución estandarizada de hidróxido de sodio 0,1 N utilizando como indicador la solución de fenolftaleína.

##### 2.4.4.2.1. Procedimiento:

- Lavar y secar el matraz Erlenmeyer en la estufa a  $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante un lapso de 30 min.
- Dejar enfriar en el desecador y luego pesar con aproximación al 0,1 mg.
- Homogenizar la muestra preparada e inmediatamente transferir al matraz Erlenmeyer y pesar aproximadamente 20 g de muestra con proximidad al 0,1 mg.
- Diluir la cantidad contenida en el matraz con agua destilada en un volumen dos veces mayor y agregar 2 mL del indicador fenolftaleína.



- Lentamente y con agitación continua, agregar la solución de hidróxido de sodio 0,1 N hasta obtener un color rosado persistente que desaparece lentamente.
- Seguir agregando la solución hasta que la coloración rosada perdure durante 30 segundos.
- Leer en la bureta el volumen de solución utilizada, con aproximación a 0,05 mL. (NTE INEN 0013, 1984, pp.1-3)

#### 2.4.4.2.2. Cálculos:

La acidez titulable de la leche se calcula mediante la ecuación que se indica en la norma NTE INEN 0013 (1984, pp.1-3):

$$A = 0,009 \frac{V \times N}{m_1 - m} \times 100$$

Dónde:

A = acidez titulable de la leche, en porcentaje en masa de ácido láctico,

V = volumen en mL de la solución de NaOH empleado en la titulación,

N = normalidad de la solución de NaOH,

m = masa en gramos del matraz Erlenmeyer vacío,

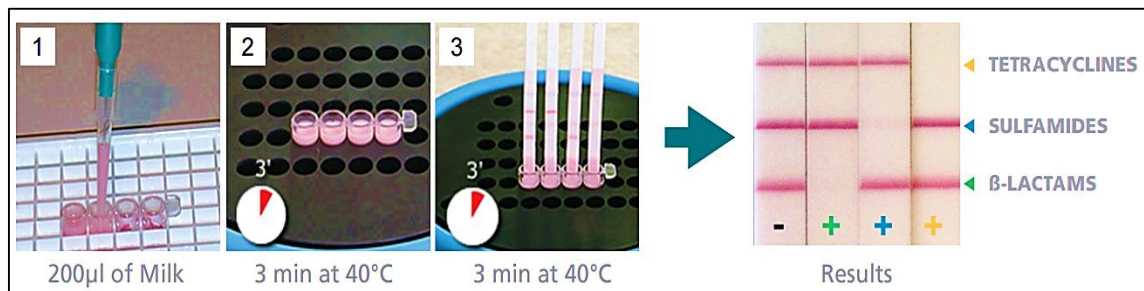
m1 = masa en gramos del matraz Erlenmeyer con la muestra.

#### 2.4.4.3. Detección de antibióticos.

Se realizó la determinación con la ayuda de Trisensor, un ensayo rápido en formato de tira reactiva que detecta la contaminación de la leche por betalactámicos, tetraciclinas y sulfonamidas al mismo tiempo, esta prueba competitiva implica dos receptores y anticuerpos monoclonales genéricos en una sola operación. Para la leche, tarda 6 minutos en funcionar y no requiere ninguna limpieza o preparación de la muestra. Es capaz de detectar las 3 familias de antibióticos en concentraciones cercanas a sus respectivos límites máximos de residuos (LMR). Los resultados se visualizan en las 3 líneas de captura específicas mediante el uso de conjugados de oro coloidales. (Lemmens et al., 2009, p.1)

#### 2.4.4.3.1. Procedimiento:

- Abrir el kit y tomar los micropocillos y las varillas de medición.
- Deprnder la tira de las tapas que se usará.
- Identificar las varillas de inmersión y homogenizar la muestra de leche.
- Con la ayuda de la micro pipeta y puntas de plástico estériles transferir 200µL de leche al micropocillo.
- Incubar el micropocillo con la leche durante el lapso de 3 minutos a 40°C.
- Colocar las varillas de inmersión en los micropocillos durante 3 minutos adicionales a 40°C, el fluido emigra a través de las varillas de medición, se puede observar las líneas apareciendo.
- Leer los resultados y comparar con la hoja de interpretación.



**Figura 2-2:** Procedimiento Test Trisensor.

**Fuente:** (Lemmens et al., 2009, p.1)

#### 2.4.5. Análisis Microbiológicos

El análisis microbiológico se realizó en la cámara de flujo laminar, previo a una desinfección con ayuda del UV, por aproximadamente 30 minutos.

#### 2.4.5.1. Preparación de la suspensión inicial y diluciones.

##### 2.4.5.1.1. Diluciones de leche cruda, leche pasteurizada, suero y salmuera.

- Homogenizar cada muestra agitando por 25 ocasiones el frasco que la contiene durante 10 segundos.
- Tomar 1mL de cada muestra (leche cruda, pasteurizada, suero y salmuera) con la ayuda de la micro pipeta y colocar en un tubo de ensayo que contenga 9 mL del diluyente agua de peptona tamponada al 0.01% previamente esterilizado y mezclar adecuadamente. Obteniendo así la primera dilución ( $10^{-1}$ ).
- Una vez homogenizada la primera dilución, transferir con pipeta automática 1 mL de la solución a un tubo de ensayo estéril que contenga 9 mL de agua peptonada y mezclar, de este modo se tiene la segunda dilución ( $10^{-2}$ ).
- Se repite la operación anterior para obtener mayores diluciones: tercera ( $10^{-3}$ ), cuarta ( $10^{-4}$ ) y quinta ( $10^{-5}$ ) (NTE INEN 1529-2, 1999, pp.14-16), se indica a continuación las diluciones con las que se trabajó las distintas muestras.

**Tabla 1-2:** Diluciones de las muestras de materias primas, suero, salmuera y queso.

MUESTRA	DILUCIONES
Leche cruda	$10^{-4}$ y $10^{-5}$
Leche pasteurizada	$10^{-1}$ y $10^{-2}$
Suero	$10^{-4}$ y $10^{-5}$
Salmuera	$10^{-2}$ y $10^{-3}$
Queso	$10^{-3}$ y $10^{-4}$

Realizado por: Verónica Contero. 2017

##### 2.4.5.1.2. Diluciones del queso.

- Retirar el queso fresco de la funda y tomar una muestra.
- Pesar 10 g de queso fresco y colocar en un matraz Erlenmeyer limpio y previamente esterilizado.

- Agregar 90 mL de agua de peptona tamponada a los gramos de queso para obtener así la solución madre.
- Homogenizar y esperar aproximadamente 15 minutos hasta que se sedimente.
- Tomar 1000  $\mu\text{L}$  del sobrenadante y trasladar a un tubo de ensayo estéril que contiene 9 mL de agua de peptona y homogenizar, obteniéndose la primera dilución ( $10^{-1}$ ).
- De la solución anterior, transferir con pipeta automática 1000  $\mu\text{L}$  a un tubo de ensayo estéril que contenga 9 mL de agua de peptona tamponada y mezclar, de este modo se tiene la segunda dilución ( $10^{-2}$ ).
- Se repite la operación anterior para obtener las diluciones siguientes: tercera ( $10^{-3}$ ) y cuarta ( $10^{-4}$ ) con las cuales se trabajó en los distintos medios de cultivo (NTE INEN 1529-2, 1999, pp.14-16).

#### 2.4.5.2. *Determinación de Aerobios Mesófilos en agar para métodos estándar.*

##### 2.4.5.2.1. *Preparación del agar*

- 1) Realizar el cálculo de la cantidad de agar a pesar en dependencia del volumen que se va a preparar, en el medio se indica que es 23.5 g por litro.
- 2) Colocar en un matraz Erlenmeyer el medio de cultivo y disolver en agua destilada.
- 3) Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto.
- 4) Esterilizar en autoclave a  $121^{\circ}\text{C}$  (15 libras de presión) durante 30 minutos.
- 5) Dejar enfriar hasta una temperatura entre  $45\text{-}50^{\circ}\text{C}$ .

##### 2.4.5.2.2. *Técnica de Siembra*

- 1) Rotular e identificar las cajas petri a utilizar.
- 2) Depositar en las cajas 1000  $\mu\text{L}$  de cada dilución con la que se va a trabajar, utilizando para cada depósito puntas de plástico distintas y estériles.
- 3) De manera inmediata colocar en cada una de las placas inoculadas, aproximadamente 20 mL de agar PCA templado a  $45\text{-}50^{\circ}\text{C}$ .
- 4) Mezclar cuidadosamente el inóculo de siembra con el medio de cultivo, realizando a la placa movimientos de vaivén: 5 veces en el sentido de las agujas del reloj y 5 veces en el contrario.

- 5) Dejar en reposo hasta que solidifique el agar en las cajas petri.
- 6) Invertir las placas y posteriormente incubarlas a temperatura de  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 48 horas.
- 7) En la incubadora las placas deben estar apiladas en grupos de 6, separadas entre sí, de las paredes y del techo de la incubadora.
- 8) Observar el crecimiento bacteriano (NTE INEN 1529-5, 2006, pp. 2-3).

#### 2.4.5.2.3. *Lectura e interpretación*

Contar todas las colonias que han crecido en el medio de cultivo incluyendo las pequeñas, las colonias de crecimiento difuso se deben considerar como una sola si el crecimiento de este tipo de colonias cubre menos de un cuarto de la placa, si cubre más no se debe tomar en cuenta en el ensayo. Finalmente anotar el número de colonias y la dilución respectiva. (NTE INEN 1529-5, 2006, pp. 2-3)

#### 2.4.5.2.4. *Cálculos*

El número de unidades formadoras de colonia (UFC) por gramo o mililitro de muestra será:

$$UFC/g \text{ ó } ml = \text{Número de colonias} \times \text{Factor de dilución}$$

#### 2.4.5.3. *Determinación de mohos y levaduras en Agar Sabouraud con Cloranfenicol.*

##### 2.4.5.3.1. *Preparación del agar*

- 1) Realizar el cálculo de la cantidad de agar a pesar en dependencia del volumen que se va a preparar, en el medio se indica que es 65 g por litro.
- 2) Colocar en un matraz Erlenmeyer el medio de cultivo y disolver en agua destilada.
- 3) Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto.
- 4) Esterilizar en autoclave a  $121^{\circ}\text{C}$  (15 libras de presión) durante 30 minutos.
- 5) Dejar enfriar hasta una temperatura entre  $45\text{-}50^{\circ}\text{C}$ .
- 6) Colocar de 15 a 20 ml de medio en las cajas petri.
- 7) Dejar en reposo hasta la solidificación del agar (Negroni et al., 2011: p.33).

#### 2.4.5.3.2. *Técnica de Siembra*

- 1) Rotular e identificar las cajas Petri con agar Sabouraud.
- 2) Inocular en el medio 1000 µL de cada dilución con la que se va a trabajar, utilizando para cada depósito puntas de plástico distintas y estériles.
- 3) Extender la muestra por toda la placa utilizando una varilla de cristal en forma de L, estéril.
- 4) Dejar que la suspensión se absorba en el agar.
- 5) Invertir las placas e incubarlas a temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 5 días.
- 6) En la incubadora las placas deben estar apiladas en grupos de 6, separadas entre sí, de las paredes y del techo de la incubadora.
- 7) Observar el crecimiento bacteriano (Bermúdez, 1987, p.3).

#### 2.4.5.3.3. *Lectura e interpretación*

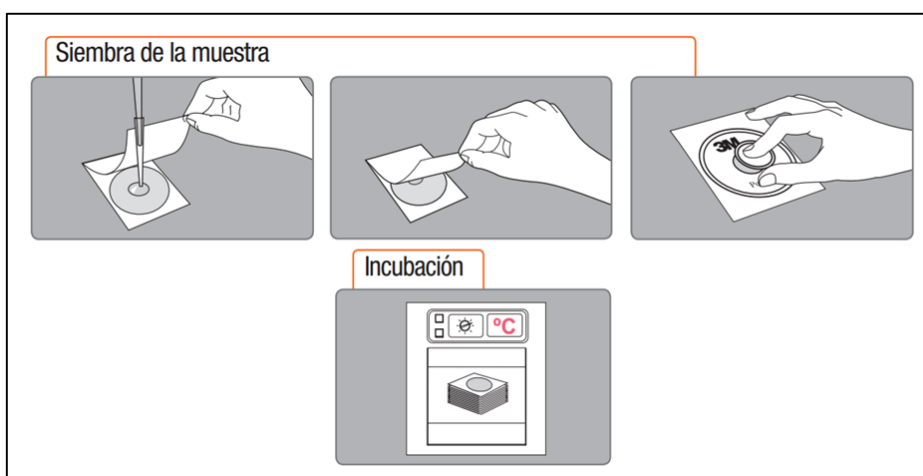
Contar las colonias de mohos y levaduras en conjunto o separadamente, las colonias de levaduras deben ser comprobadas por examen microscópico. Pueden presentarse colonias pequeñas las cuales deben excluirse del conteo ya que son bacterias acidófilas, sin embargo el Cloranfenicol del medio inhibe el crecimiento de estas, por lo que es escasa su presencia. Anotar el número de colonias y la dilución respectiva.

#### 2.4.5.4. *Determinación de Staphylococcus aureus, Enterobacterias y E.coli / Coliformes mediante la técnica de Petrifilm según 3M.*

##### 2.4.5.4.1. *Técnica de Siembra*

- 1) Rotular las placas petrifilm respectivamente.
- 2) Colocar el Petrifilm en una superficie plana y levantar el film superior.
- 3) Con la pipeta automática, ubicada de modo perpendicular a la placa, y utilizando para cada depósito puntas de plástico distintas y estériles, colocar 1000 µL de muestra en el centro del film inferior.
- 4) Bajar el film superior cuidadosamente evitando la formación de burbujas de aire, por lo que no hay que dejarlo caer.

- 5) Con la ayuda del aplicador y con la cara plana hacia abajo, ejercer suavemente presión para distribuir el inóculo sobre la superficie circular antes de la formación del gel. No se debe girar ni desplazar el aplicador.
- 6) Incubar las placas Petrifilm con la película transparente hacia arriba sin invertir. Se pueden colocar varias placas una sobre otra, en columnas que no excedan 20 unidades.
  - *Staphylococcus aureus*: Incubar durante  $24 \pm 2$  horas a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .
  - Enterobacterias: Incubar durante  $24 \pm 2$  horas a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .
  - *E. coli* / *Coliformes*: En el caso de *Coliformes*, incubar por  $24 \pm 2$  horas a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Para *E. coli*, incubar durante  $48 \pm 2$  horas a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .
- 7) Proceder a la lectura de las placas de acuerdo a la guía de interpretación (Petrifilm™ 3M™, 2003, pp.7-48).



**Figura 3-2:** Técnica de siembra en Placas 3M™ Petrifilm™.

**Fuente:** (Petrifilm™ 3M™, 2003, pp. 47-48)

#### 2.4.5.4.2. Lectura e interpretación.

- 1) *Staphylococcus aureus*: Si no hay aparición de colonias luego de  $24 \pm 2$  horas de incubación, el recuento es 0 y se da por terminado el ensayo. Si hay crecimiento de colonias se interpreta de la siguiente manera: las colonias rojo - violeta son *S. aureus*, las colonias azul - verde no son *S. aureus* y las colonias negras pueden ser o no *S. aureus*. Por lo mismo, se confirma posteriormente el ensayo en agar manitol salado. Para mejor interpretación consultar las guías Petrifilm. (Petrifilm™ 3M™, 2003, pp. 45-48)

- 2) Enterobacterias: Las colonias pueden estar asociadas a burbujas de gas, o también producir colonias rojas rodeadas por zonas ácidas de coloración amarilla y también pueden producir colonias rojas asociadas a zona ácida y burbujas de gas. Para mejor interpretación consultar las guías Petrifilm 3M. (Petrifilm™ 3M™, 2003, pp. 7-12)
- 3) *E.coli* / *Coliformes*: Las colonias rojas y azules con gas se cuentan como *Coliformes* durante las primeras 24 horas, y cualquier colonia de azul a rojo-azul, indica la presencia de *E. coli*, mismas que se cuentan a las 48 horas de incubación. Para mejor interpretación consultar las guías Petrifilm 3M (Petrifilm™ 3M™, 2003, pp. 21-26).

#### 2.4.5.5. *Confirmación de Staphylococcus aureus por fermentación en agar manitol salado.*

##### 2.4.5.5.1. *Preparación del agar*

- 1) Realizar el cálculo de la cantidad de agar a pesar en dependencia del volumen que se va a preparar, en el medio se indica que es 111,02 g por litro.
- 2) Colocar en un matraz Erlenmeyer el medio de cultivo y disolver en agua destilada.
- 3) Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto.
- 4) Esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión) durante 30 minutos.
- 5) Dejar enfriar hasta una temperatura entre 45-50 °C.
- 6) Colocar de 15 a 20 ml de medio en las cajas bi petri.
- 7) Dejar en reposo hasta la solidificación del agar (Britania Labs, 2011, pp.1-2).

##### 2.4.5.5.2. *Técnica de Siembra*

- 1) Rotular e identificar las cajas bi Petri que contienen agar manitol salado.
- 2) De las placas Petrifilm Staph Express tomar las colonias moradas de la película superior que contiene el gel, el proceso se realiza con la ayuda de un asa de platino estéril.
- 3) Sembrar con la técnica de estriado, el inóculo del asa en el medio de cultivo.
- 4) Invertir las placas e incubarlas a temperatura de 37°C ± 1°C durante 24± 2 horas.
- 5) En la incubadora las placas deben estar apiladas en grupos de 6, separadas entre sí, de las paredes y del techo de la incubadora.
- 6) Observar el crecimiento bacteriano (Britania Labs, 2011, pp.1-2).



#### 2.4.5.5.3. *Lectura e interpretación*

Se confirma la presencia de *Staphylococcus aureus* en agar manitol salado, cuando las colonias son de color amarillo y a su alrededor se observa la fermentación del mismo color (Britania Labs, 2011, pp.1-2).

## CAPITULO III

### 3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.

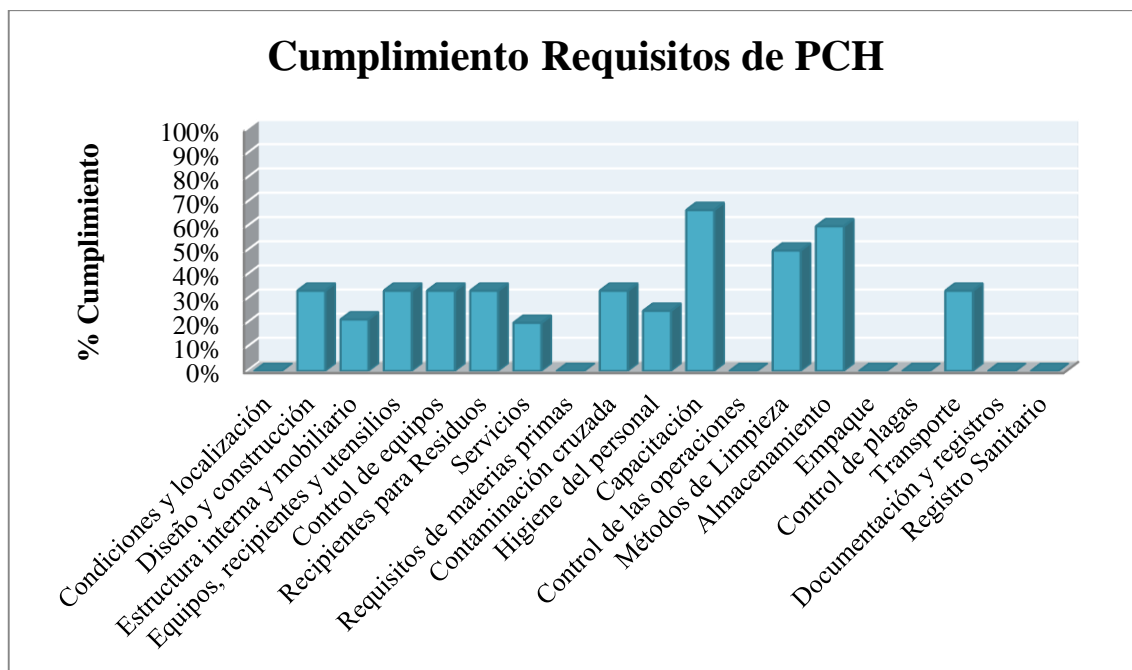
#### 3.1. Cumplimiento de las Prácticas Correctas de Higiene.

En base en la lista de verificación de las Prácticas Correctas de Higiene (Anexo A) se determinó el porcentaje de cumplimiento de manera total y grupal (Gráfico 1-3) en la Quesera artesanal COD.Q4, los resultados se presentan en la Tabla 1-3.

**Tabla 1-3:** Porcentaje de cumplimiento de las PCH en la Quesera artesanal COD.Q4

REQUISITOS	CUMPLE (%)	NO CUMPLE (%)
Condiciones mínimas básicas y localización (Art.4)	0,00%	100,00%
Diseño y construcción (Art. 5)	33,33%	66,67%
Estructura interna y mobiliario (Art. 6)	21,43%	78,57%
Equipos, recipientes y utensilios (Art. 7)	33,33%	66,67%
Control de equipos ( Art. 8)	33,33%	66,67%
Recipientes para Residuos y Sustancias No Comestibles (Art. 9)	33,33%	66,67%
Los servicios ( Art. 10)	20,00%	80,00%
Requisitos relativos a las materias primas (Art.11)	0,00%	100,00%
Contaminación cruzada (Art. 12)	33,33%	66,67%
Higiene del personal (Art.13)	25,00%	75,00%
Capacitación (Art. 14)	66,67%	33,33%
Control de las operaciones ( Art. 15)	0,00%	100,00%
Procedimientos y Métodos de Limpieza (Art. 16)	50,00%	50,00%
Almacenamiento (Art. 17)	60,00%	40,00%
Empaque ( Art. 18)	0,00%	100,00%
Control de plagas ( Art. 19)	0,00%	100,00%
Transporte ( Art. 20)	33,33%	66,67%
Documentación y registros ( Art. 21)	0,00%	100,00%
DEL REGISTRO SANITARIO (CAPÍTULO V) (Art. 24, 25 )	0,00%	100,00%
<b>CUMPLIMIENTO TOTAL DE PCH</b>	<b>27,84%</b>	<b>72,16%</b>

Realizado por: Verónica Contero. 2017



**Gráfico 1-3:** Porcentaje de Cumplimiento Grupal de los Requisitos de las PCH en la Quesera Artesanal COD.Q4.

**Realizado por:** Verónica Contero. 2017

Los porcentajes obtenidos y presentados en la Tabla 1-3, son el resultado de la sumatoria de los puntajes otorgados a cada parámetro de la lista de verificación de PCH en dependencia del su cumplimiento total, parcial o incumplimiento. Se muestra que la Quesera artesanal tiene un porcentaje cercano al 28% de cumplimiento total de los requisitos de las PCH.

Se observa también en la Tabla 1-3 y en el Gráfico 1-3 que 7 de los 19 grupos de artículos se incumplen al 100%, 9 de ellos no cumple ni el 50% de lo establecido por la regulación, mientras que los 3 restantes superan el 50% de cumplimiento pero no sobrepasan el 67%, es decir que ninguno de los de artículos establecidos por la Agencia de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria se cumplen al 100% en la Quesera artesanal COD.Q4.

Se obtuvo los resultados debido a que la quesera incumple las condiciones básicas por no estar alejada de fuentes de contaminación, ya que existen animales, polvo y agua empozada a las afueras del establecimiento, según Paucar (2013, p.22) la mala ubicación del establecimiento, la falta de protección contra plagas y escasa ventilación son factores determinantes que contribuyen a la contaminación de alimentos.

En cuanto a la infraestructura existe deficiencias al encontrarse superficies agrietadas en paredes y pisos lo que ocasiona la acumulación de polvo y suciedad o sustancias ajenas al producto, lo cual dificulta la limpieza y desinfección en la empresa; los equipos, recipientes y utensilios deben ser de material liso no tóxico como el acero inoxidable lo cual no cumple en su totalidad debido a que existen superficies como las planchas de la prensa que son de madera, misma que debería ser reemplazada de acuerdo a su uso, sin embargo, no se encuentra en buen estado. La contaminación microbiana puede provenir de varias fuentes, según un estudio realizado por Temelli, et al. (2006, p.1) donde se analiza pisos, paredes y materiales como la tina del queso, tela del queso y cuchillos para corte de la cuajada, en el cual se encontró que estos utensilios constituyen una fuente de contaminación de aerobios mesófilos totales.

Otro de los factores donde existe un elevado porcentaje de incumplimiento es en los servicios, puesto que el establecimiento no cuenta con agua potable lo cual constituye un gran problema, ya que en las industrias de alimentos se requiere grandes cantidades de ésta, para realizar las operaciones como: limpieza, lavado de manos del personal y su uso en la salmuera, por esto se debe asegurar un abastecimiento continuo y que cumpla con la calidad necesaria a lo cual hay que prestarle fundamental atención, pues cualquier contaminación ya sea accidental o intencionada puede repercutir en los resultados que se esperan del proceso. (Food Safety Innovation, 2013). Sin embargo, el sistema de abastecimiento de agua en el sector, es proveniente de la vertiente y esta es utilizada para todas las operaciones y elaboración del queso artesanal, y al no tener un proceso de potabilización o purificación puede no ser apta para el uso en el establecimiento.

Es fundamental que las queseras ubicadas en sectores rurales utilicen procesos de potabilización en el agua proveniente de pozos o vertientes ya que estudios demuestran la contaminación de esta, Valenzuela (2009) encontró que el agua de 42 pozos muestreados en un sector rural de la VIII Región en Chile estaba contaminada con Coliformes, 88% de los establecimientos evaluados no mostraron registros de potabilización del agua, lo que indicó que el procedimiento no estaría siendo realizado o no se lo hacía de manera correcta, al presentar una calidad deficiente se presume que la leche y el queso se pueden contaminar en cualquiera de las etapas de elaboración (Mancilla, 2015, pp.24-25)

En el caso de control de equipos la empresa tiene un mínimo porcentaje de cumplimiento y en el control de operaciones y plagas su incumplimiento es del 100%, debido a que la empresa no realiza ningún tipo de control de calidad ni cuenta con documentación y manejo de registros, estos factores también son requerimientos necesarios para que la quesera cumpla con las PCH.

En un estudio realizado en el Ecuador, menciona INSOTEC (2013, p. 2) que según encuestas realizadas un 97% de las empresas en Pichincha y 35% en Cotopaxi, no utilizan ningún tipo de sistema de control de calidad y ésta falta de control en la elaboración de quesos, hacen que el producto constituya un vehículo para la transmisión de enfermedades.

En cuanto almacenamiento la empresa cumple con el 60% de lo requerido, al contar con cuarto frío que permite preservar la vida útil del alimento, sin embargo, para tener un cumplimiento total de este factor, es necesario un control adecuado de la temperatura y humedad en ésta área de la empresa, y que se mantenga la cadena de frío tanto en la materia prima como en el producto final. De acuerdo a INSOTEC (2013, p. 2) la falta de sistemas de refrigeración, ocasiona en gran parte el desarrollo y proliferación de numerosas especies bacterianas.

Por otro lado, se menciona también en INSOTEC (2013, p.2) que el alto contenido de microorganismos es consecuencia directa del deficiente transporte, ya que esta operación es realizada en camiones que no tienen cubierta, donde las materias primas o productos se encuentran expuestos a la luz del sol, contaminantes ambientales, como polvo o basura, lo que afecta mayoritariamente a las características del producto.

En base a lo expuesto anteriormente, se evidencia que al presentar un porcentaje bajo o mínimo de cumplimiento de Prácticas Correctas de Higiene, el producto elaborado en la quesera artesanal está expuesto a varias fuentes y factores de contaminación. De acuerdo a su riesgo el ARCSA ha clasificado a los establecimientos que elaboran productos lácteos y derivados, como de alto riesgo y se encuentran dentro del grupo A. Se indica que se deberá cumplir con todos los requisitos establecidos en la norma, es decir el 100% de los parámetros (ARCSA , 2015, p.20).

### 3.2. Resultados del análisis físico-químico.

**Tabla 2-3:** Resultados del Análisis físico-químico de leche cruda y suero.

Muestras	Acidez (% de ácido láctico)		Densidad relativa a 20 °C (g/mL)		Antibióticos
	Media y DE	Índices permisibles	Media y DE	Índices permisibles	
Leche Cruda	0,14 ± 0,02	0,13 - 0,17	1,0298 ± 0,0007	1,028 - 1,032	Negativo
Suero	0,10 ± 0,02	0,16	1,0264 ± 0,0003	N.E	No Aplica

N.E = No encontrado.

**Realizado por:** Verónica Contero. 2017

En la Tabla 2-3 se muestra los resultados del análisis de la acidez y densidad relativa para leche cruda y suero, los valores expuestos representan el promedio de tres muestreos y su desviación estándar, se indica también los límites permisibles de éstos parámetros establecidos en la normativa para leche cruda (NTE INEN 0009, 2012) y suero (NTE INEN 2594, 2011), se presenta también el resultado de la presencia de antibióticos obtenido en los 3 muestreos.

Como se puede observar en la Tabla 2-3, la acidez promedio de la leche cruda fue (0,14 ± 0,02) % de ácido láctico, cumpliendo con el límite máximo permitido en la norma NTE INEN 0009 (2012, p.2), lo cual constituye un indicativo de la frescura de la materia prima, ya que la leche tiene una acidez natural debido a componentes como la caseína, sustancias minerales, fosfatos, etc., sin embargo, el parámetro evaluado es la acidez desarrollada por la presencia de ácido láctico que procede de la degradación microbiana de la lactosa y ocasionalmente de lípidos, esto generalmente sucede en leche en vías de alteración según Negri (2005, p.1), por lo tanto, cuando existe mayor acción microbiana el porcentaje en ácido láctico será mayor. Mientras que el límite inferior, se incumple ya que en uno de los 3 muestreos el porcentaje fue menor al establecido por el rango, Negri (2005, p.1) menciona también que la acidez titulable disminuye conforme avanza el período de lactación del animal e indica que ésta suele ser baja en leches mastíticas. Resultados similares se tiene en un estudio realizado por Calderón y Rodríguez (2012, p.3) en empresas ganaderas en Córdoba donde se encontró que la acidez promedio fue de 0,17% de ácido láctico; otra investigación realizada en cuatro procesadores de leche en Colombia, muestras valores de

acidez de 0,19%, e indican que estos valores elevados pudieron deberse a la falta refrigeración de la leche y almacenamiento en materiales no adecuados de acuerdo a Calderón (2007, p.7).

Se muestra en la Tabla 2-3 que la densidad relativa corregida a 20°C de la leche cruda fue de  $(1,0298 \pm 0,0007)$  g/mL, lo cual cumple con los límites establecidos en la norma NTE INEN 0009 (2012, p.2), este puede ser indicativo que la leche no ha tenido adulteración en el caso de la adición de agua a la misma, puesto que esto disminuye su densidad, sin embargo, la medida de densidad no puede revelar fraude por si sola según menciona Lacasa (2003, pp. 254-255). Valores similares de densidad se obtuvieron en un estudio de la leche en cuatro procesadores de queso en Colombia donde el promedio fue de 1,030 g/mL (Calderón et al., 2007: p.1) y densidad de 1,029 g/mL en unidades de producción familiar en un estudio al sur de Ciudad de México (Álvarez et al., 2012: p.2).

El resultado en tres muestreos realizados para la determinación de residuos de antibióticos fue negativo, esto se traduce en una leche libre de contaminantes como son los betalactámicos, tetraciclinas y sulfonamidas. De acuerdo a Magariños (2000, pp. 57-60) la presencia de antibióticos en la leche ocasiona en el ser humano reacciones de tipo alérgicas y puede también provocar alteraciones en la flora intestinal, estimular bacterias resistentes a antibióticos, desarrollar microbios patógenos y ocasionar reducción de la síntesis de vitaminas. Los problemas tecnológicos que pueden ocurrir en la elaboración del queso son: la demora en el proceso de coagulación o coagulación deficiente, proliferación de microorganismos indeseables y alteración de características organolépticas como el sabor y textura. En una investigación de antibióticos en leche cruda y procesada en el municipio de Montería, se evidenció un 25 % de trazas presentes en la materia prima demostrando una inexistencia de control sanitario (Máttar et al., 2009: p.579), en otro estudio de residuos de antibióticos en leche cruda comercializada en Callao se obtuvo un 40% de muestras positivas para betalactámicos y no se registraron muestras positivas para tetraciclinas (Guerrero et al., 2009: p.1), finalmente en una evaluación realizada en Jalisco – México se detectó que de 20 muestras de leche cruda, 3 fueron positivas para betalactámicos y 3 positivas a tetraciclinas, el 77% de las muestras positivas contenían al menos una sulfonamida (Noa-Lima et al., 2009: p.29). Estos estudios evidencian la importancia del control de antibióticos en las plantas procesadoras de alimentos.

En el suero se obtuvo una acidez de  $(0,10 \pm 0,02)$  % de ácido láctico, porcentaje que se encuentra dentro del rango normal establecido en la norma NTE INEN 2594 (2011, p.2) para suero dulce, el cual es obtenido en el proceso de elaboración del queso por el uso de enzimas proteolíticas o

cuajo que actúa sobre las caseínas de la leche haciendo que se fragmenten, desestabilicen y precipiten. (Hernández y Vélez, 2014: p.2). Los valores obtenidos coinciden con el promedio de acidez 0.08% de ácido láctico obtenido en la investigación de la caracterización físico-química del suero dulce obtenido en la producción de queso casero en el municipio de Pasto (Viteri et al., 2014: p.25) y también con los resultados acidez del lactosuero de 0,12 % de ácido láctico encontrados en un estudio para elaboración de queso a partir del suero y leche fluida realizado por Monsalve y González (2005, p.545). Pulgar (1988, p.58), manifiesta que la acidez ya sea real o adquirida de los productos lácteos, se debe al ácido láctico el cual es producto de la acción bacteriana.

El resultado de densidad relativa corregida a 20°C obtenida en el suero lácteo fue  $(1,0264 \pm 0,0003)$  g/mL, no se encontraron valores de referencia para el cumplimiento de éste parámetro en normativas, sin embargo, en el proyecto de Norma Mexicana PROY-NMX-F-721 COFOCALEC (2012, p.8) se señala que los valores normales de densidad para suero líquido dulce deben estar entre 1,023 a 1,026 (g/mL). En una publicación de Paredes Montoya et al. (2014, p.14) sobre las características físicoquímicas del suero de leche en Chihuahua se tiene que los resultados de densidad en dos regiones fueron de  $(1.024 \pm .002)$  g/mL y  $(1.023 \pm .002)$  g/mL, valores similares de densidad entre  $(1,025 - 1.027)$  g/mL obtuvo Viteri et al. (2014, p. 29) en el estudio de la caracterización físicoquímica del suero dulce de la producción de queso casero en el municipio de Pasto; todos estos resultados son semejantes a los descritos en la presente evaluación.

### **3.3. Resultados del análisis microbiológico.**

Los resultados que se presentan a continuación corresponden a la evaluación microbiológica realizada durante el lapso de dos semanas y con la toma de 3 muestras para el análisis de: leche cruda, pasteurizada, suero, salmuera, queso fresco, superficies de equipos y materiales, manos del manipulador de alimentos, y ambiente de la Quesera Artesanal COD.Q4 ubicada en la parroquia Químiag, Cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo.



### 3.3.1. Resultados del Análisis Microbiológico de la Materia Prima.

**Tabla 3-3:** Resultados del Análisis Microbiológico de la materia prima.

Muestra	Aerobios mesófilos		<i>Staphylococcus aureus</i>		Enterobacterias	
	Log X y DE	Log índices máximos permisibles	Log X y DE	Log índices máximos permisibles	Log X y DE	Log índices máximos permisibles
Leche cruda*	8,10 ± 0,89	6,18	0,00	N.E	5,20 ± 0,35	N.E
Leche pasteurizada*	3,29 ± 0,46	4,70	0,00	N.E	0,00	N.E
*= Log UFC/mL N.E= No encontrado.						

Realizado por: Verónica Contero. 2017

Se muestra en Tabla 3-3 los resultados promedio de 3 muestreos y la desviación estándar expresados en Log UFC/mL, del análisis microbiológico de aerobios mesófilos, *Staphylococcus aureus* y Enterobacterias realizado a la leche cruda y pasteurizada en la Quesera artesanal COD.Q4, se presentan los límites permisibles encontrados y establecidos por la norma NTE INEN para leche cruda y pasteurizada, respectivamente.

En el ensayo microbiológico de leche cruda se obtuvo los resultados microbiológicos expuestos en la tabla 3-3, donde se observa un recuento en aerobios mesófilos de (8,10 ± 0,89) log UFC/mL que sobrepasa el límite permisible de la normativa NTE INEN 0009 (2012, p.3), no existe presencia de *Staphylococcus aureus*, y se encontró (5,20 ± 0,35) log UFC/mL de Enterobacterias. Se exponen también los resultados microbiológicos de la leche pasteurizada, donde el recuento de aerobios mesófilos fue de (3,29 ± 0,46) log UFC/mL, por lo tanto cumple con lo establecido en la norma NTE INEN 0010 (2012, p.4) es decir que se tiene un nivel aceptable de calidad; los resultados no indican presencia de *Staphylococcus aureus* y Enterobacterias en la leche pasteurizada.

En base a los resultados, la leche cruda no es idónea por la elevada presencia de microorganismos aerobios mesófilos, puesto que su determinación expresa la calidad sanitaria y situación higiénica

de la materia prima según Pascual y Calderón (1999, p.13). Posada Arias et al. (2010, pp. 41-45) concluyeron que el tiempo que transcurre desde el ordeño hasta el enfriamiento de la leche es el factor principal de riesgo para el incremento de aerobios mesófilos, en su investigación obtuvieron un recuento de aerobios mesófilos de 316000,90 UFC/mL, estos cumplen con la normativa lo cual contrasta con los resultados obtenidos en la presente evaluación microbiológica, debido a que la leche cruda no permanece almacenada en temperatura de refrigeración lo que afecta su calidad ya que el tiempo que transcurre desde el ordeño hasta el procesamiento de la materia prima es extenso. Calderón et al. (2006, pp.728-729) obtienen recuentos de 1179306 UFC/mL de aerobios mesófilos en leche cruda de diferentes regiones de Colombia, estos resultados son similares a los encontrados en éste estudio, indican que la causa del elevado recuento de estos microorganismos es ocasionado por contaminación bacteriana de residuos de leche presentes en la superficie de los implementos utilizados en la obtención y almacenamiento de la leche, por ubres sucias o no higienizadas antes del ordeño y la no refrigeración inmediata de la leche.

El nivel de calidad en la leche pasteurizada es aceptable con los resultados obtenidos para aerobios mesófilos, por esto, en el proceso de pasteurización de la leche cruda se produjo eliminación de patógenos, esto indica la calidad higiénica y sanitaria de la materia prima con la que se va elaborar el queso fresco. Resultados similares a los expuestos, se evidenciaron en un estudio realizado por Luigi et al. (2013, p.30) donde evaluaron la calidad higiénico-sanitaria registrándose  $1,8 \times 10^4$  UFC/mL para aerobios mesófilos en leche pasteurizada expandida en el estado Carabobo, Venezuela.

En referencia al recuento de *Staphylococcus aureus* no se obtuvo crecimiento en leche cruda y pasteurizada, es un buen indicativo debido a que ciertas especies de este microorganismo producen enterotoxinas que son estables en temperaturas elevadas y no se desactivan en la pasteurización, el peligro de la toxina es común en vacas con mastitis ya que esta infección es ocasionada por bacterias como el *Staphylococcus*, la contaminación de la leche con el microorganismo puede ocurrir por inadecuadas prácticas de higiene del personal con un mal lavado de manos o por el contacto de la leche con equipos y utensilios que no estén bien limpios o desinfectados. Se evidencia en investigaciones la presencia de *Staphylococcus aureus* en leche cruda lo que afecta la calidad sanitaria de la materia prima y por consiguiente del producto final, Tondo et al. (2000, p.1108) encontró en el 90,4% de la leche cruda contaminación con la presencia del microorganismo, el estudio fue realizado en una planta de procesamiento de productos lácteos; Castañeda Ruelas et al. (2016: pp.1-8) detecto en el 20% (1/5) de leche cruda la presencia de *Staphylococcus aureus* en una planta de queso de pequeña escala en el noroeste de México; Rola

et al. (2016: p.3) encontró presencia del microorganismo en la producción de Quesos en Polonia, en el 46,2% (12/26) de la leche cruda y en el 66,7% (8/12) de la leche pasteurizada.

En el recuento de Enterobacterias se obtuvo  $(5,20 \pm 0,35)$  log UFC/mL en leche cruda. No se encontraron límites para estas bacterias en normativas, sin embargo el recuento elevado muestra la contaminación de la materia prima y la falta de higiene en la misma, puesto que estas bacterias están ligadas a contaminación de origen fecal y varias de sus especies como: *E. coli*, *Shigella* y *Salmonella* son patógenos causantes de enfermedades gastrointestinales (Celis y Juárez, 2009: p.15). Faría et al. (1998: p.317) encontró la presencia de Enterobacterias en un porcentaje del 18% (75/416) en leche cruda. Suárez et al. (2006: p.91) detectó en leche cruda microorganismos nocivos para la salud humana como son: *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Salmonella* y *Shigella sp.* y concluyó que en leches crudas es prácticamente imposible la ausencia de Enterobacterias; en la presente evaluación no hubo crecimiento de Enterobacterias en la leche pasteurizada, esto nos indica la posibilidad de que las bacterias fueron destruidas en el proceso térmico al que fue sometida la leche.

### 3.3.2. Resultados del Análisis Microbiológico de Suero, Queso y Salmuera.

**Tabla 4-3:** Resultados del análisis microbiológico de A. mesófilos, *S. aureus* y Enterobacterias en Suero, Queso y Salmuera.

Muestra	Aerobios mesófilos		<i>Staphylococcus aureus</i>		Enterobacterias	
	Log X y DE	Log índices máximos permisibles	Log X y DE	Log índices máximos permisibles	Log X y DE	Log índices máximos permisibles
Suero*	$6,71 \pm 0,34$	5,00	$5,84 \pm 0,06$	< 2,00	$6,58 \pm 0,13$	N.E
Queso**	$5,77 \pm 0,19$	N.E	$5,08 \pm 0,06$	2,00	$3,53 \pm 0,50$	3,00
Salmuera*	$5,55 \pm 0,34$	N.E	$2,36 \pm 0,10$	N.E	-	-

\*= Log UFC/mL  
 \*\*= Log UFC/g  
 N.E= No encontrados.

Realizado por: Verónica Contero. 2017

En la Tabla 4-3 se presentan los resultados de la evaluación microbiológica de Aerobios mesófilos, *Staphylococcus aureus* en suero lácteo, queso y salmuera, y el recuento de Enterobacterias en suero y queso; se muestran también los límites permisibles encontrados en las normativas respectivas. El valor expuesto es el promedio de tres muestreos y la desviación estándar expresados en log de UFC/g o mL.

En el suero lácteo se tuvo  $(6,71 \pm 0,34)$  log UFC/mL de aerobios mesófilos, valor que sobrepasa el límite de calidad aceptable, por lo tanto no cumple con lo indicado en la norma para suero de leche líquido NTE INEN 2594 (2011, p.2). Se han encontrado en investigaciones datos de recuento microbiológico de aerobios mesófilos en lactosuero, resultados de  $3,0 \times 10^2$  UFC/mL (Monsalve y González, 2005: p.545) y  $(7,72 \pm 1,76)$  log UFC/mL (Paredes Montoya et al., 2014: p.14) valores que de igual manera incumplen con la normativa. El resultado de *Staphylococcus aureus* fue  $(5,84 \pm 0,06)$  log UFC/mL, dato que supera el límite permisible en la norma mencionada. Grandos Conde et al. (2013: p.135) obtuvo resultados con un promedio de 328 UFC/mL *S. aureus* en los sueros costeños en Colombia, el cual tampoco cumple con la normativa, se obtuvo también un alto grado de contaminación con Enterobacterias presentándose resultados de  $(6,58 \pm 0,13)$  UFC/mL que representa una elevada carga microbiana, no se encontraron límites permisibles de esta bacteria en suero lácteo, sin embargo, su presencia está ligada a contaminación de origen fecal. La presencia de elevados recuento de los microorganismos analizados es causa de las deficientes condiciones higiénico-sanitarias del establecimiento artesanal.

Los resultados de aerobios mesófilos encontrados en el queso fresco fueron  $(5,77 \pm 0,19)$  log UFC/g, no se encontraron límites permisibles para el microorganismo en la normativa, sin embargo es un recuento elevado de la microflora aerobia mesófila, indicativo de la falta de higiene y condiciones sanitarias en la materia prima y cadena de elaboración que se ve reflejado en la contaminación del producto final. Se encontraron resultados similares de la presencia de los microorganismos aerobios mesófilos en queso fresco de producción artesanal, donde los recuentos fueron elevados: Vasek et al. (2004:p.16) realizó un estudio del queso artesanal de corrientes en Argentina encontrando  $(9,76 \pm 1,98)$  log UFC/g, Maldonado y Llanca (2008: p.1) analizaron el queso de mano comercializado en el estado Aragua – Venezuela donde obtuvieron  $(4,34 \times 10^9)$  UFC/g, de igual manera Cristóbal y Maurtua (2003: p.158) concluyó que los quesos frescos artesanales comercializados en Lima – Perú, tenían una carga microbiana mesófila de  $(7,13 \times 10^6)$  UFC/g.

Se determinó la presencia de *Staphylococcus aureus* en el queso fresco, con un recuento de  $(5,08 \pm 0,06)$  log UFC/g, valor que sobrepasa el límite establecido permisible para una calidad aceptable

del producto, establecido en la norma para Queso fresco requisitos (NTE INEN 1528, 2012, p.4). Recuentos elevados de *S. aureus* se encontraron también en otras investigaciones del queso fresco elaborado en establecimientos artesanales; Cristóbal y Maurtua (2003: p.158) obtuvo resultados de  $(3,13 \times 10^5)$  UFC/g en el queso de mano comercializado en el estado Aragua – Venezuela, Barca (2014, p.24) obtuvo promedios del microorganismo que oscila entre  $(2 - 7,85)$  log UFC/g en la evaluación higiénico sanitaria de quesos artesanales en la zona litoral de Uruguay. El elevado número de *S. aureus* presente en el queso es preocupante, debido a que el microorganismo está relacionado con la generación de enterotoxinas causales de intoxicaciones alimentarias, por lo mismo es considerado un germen patógeno. En investigaciones se señala que el número mínimo de microorganismos para producir la toxina y ocasionar envenenamientos por alimentos es de  $10^4$  UFC/g (Maldonado y Llanca, 2008: p.5). Cabe mencionar que la presencia de esta bacteria en el queso podría indicar que hubo contaminación por parte del manipulador de alimentos o que el producto se contaminó al entrar en contacto con equipos, materiales y utensilios que no hayan estado debidamente limpios y desinfectados, esto refleja las malas prácticas de higiene en la cadena de elaboración del queso.

Se detectó un número de Enterobacterias de  $(3,53 \pm 0,50)$  UFC/g en el queso fresco de producción artesanal, valor que incumple con lo expuesto en la norma NTE INEN 1528 (2012, p.4). Al tratarse de bacterias que generalmente están presentes en el intestino de mamíferos, su presencia en alimentos está relacionada con contaminación de origen fecal (Celis y Juárez, 2009: p.15), ocasionado por el manejo inadecuado de quesos durante su elaboración y la falta de prácticas higiénico - sanitarias en el establecimiento. Resultados similares a los encontrados se obtuvieron en un estudio realizado a los quesos artesanales fabricados en zonas rurales de Riobamba – Ecuador, donde los valores de Enterobacterias oscilan entre  $(3,66 \pm 0,18)$  log UFC/g y  $(6,08 \pm 0,09)$  log UFC/g (Arguello et al., 2015: p.71).

La salmuera es una preparación de agua y sal en donde se sumergen los quesos frescos para su salado, en la quesera artesanal COD.Q4 se limpia el área donde reposa esta solución y en el establecimiento se la cambia cada mes, por lo que se realizó su análisis, obteniendo los siguientes resultados: Aerobios mesófilos  $(5,55 \pm 0,34)$  log UFC/ mL y *Staphylococcus aureus*  $(2,36 \pm 0,10)$  log UFC/mL, Temelli et al. (2006: p. 859) realizó un estudio en la producción de queso blanco turco, donde se analiza la salmuera y obtuvo un número de microorganismos Aerobios mesófilos y *Staphylococcus aureus* de  $(4,67 \pm 1,05)$  log UFC/ mL y  $(2,64 \pm 1,54)$  log UFC/ mL respectivamente, estos resultados son similares a los expuestos en la presente investigación, lo que constituye claramente una importante fuente de contaminación.

**Tabla 5-3:** Resultados del análisis microbiológico de Coliformes y *Escherichia coli* en Suero, Queso y Salmuera.

Muestra	Coliformes		<i>Escherichia coli</i>	
	Log X y DE	Log índices máximos permisibles	Log X y DE	Log índices máximos permisibles
Suero*	6,65 ± 0,30	N.E	5,31 ± 0,10	< 1
Queso**	3,40 ± 0,22	4,32	0,00	1,00
Salmuera*	0,00	N.E	0,00	N.E

\*= Log UFC/mL  
 \*\*= Log UFC/g  
 N.E= No encontrados.

Realizado por: Verónica Contero. 2017

Se muestran en la Tabla 5-3 los resultados del análisis microbiológico de suero, queso y salmuera en la determinación de Coliformes y *Escherichia coli*, los valores representan la media de tres muestreos y su desviación estándar, se indica también los índices máximos permisibles encontrados en las normas respectivas., los valores descritos en la tabla están expresados en log UFC/ mL o g.

Los resultados microbiológicos del suero indican la contaminación con los siguientes recuentos: (6,65 ± 0,30) UFC/mL y (5,31 ± 0,10) UFC/mL en la determinación de Coliformes y *Escherichia coli* respectivamente, éste último no cumple con los límites permisibles en la norma NTE INEN 2594 (2011, p.2), mientras que para microorganismos Coliformes no se presentan valores de referencia. Es preocupante el recuento elevado de los patógenos mencionados, puesto que al tratarse de microbios entéricos constituyen claros indicativos de la contaminación con materia fecal (Frazier y Westhoff, 1978: pp.274-276), por lo tanto no se podría utilizar como materia prima para la elaboración de subproductos a partir de este. Monsalve y González (2005: p.545) analizaron el suero lácteo en Venezuela para la elaboración de queso con leche fluida y suero, encontrando 2 UFC/mL de Coliformes y no hubo crecimiento de *E. coli*, estos resultados son opuestos a lo encontrado en el presente estudio por lo mismo en su caso pueden utilizar el suero como materia

prima para elaborar un subproducto lácteo. Grandos et al. (2013: p.135) obtuvo resultados promedios similares a los de la actual investigación, encontrando en sueros costeños de Colombia: 2023 UFC/mL de Coliformes y 1700 UFC/mL de *E. coli*. Los altos recuentos de Coliformes y *Escherichia coli*, son una clara muestra de la falta de medidas sanitarias en la quesera artesanal.

El resultado microbiológico de Coliformes en el queso fresco fue de  $(3,40 \pm 0,22)$  log UFC/g, valor aceptable con lo establecido en la norma Venezolana COVENIN 3821 (2003, p.7). No hubo crecimiento de *Escherichia coli*, parámetro que cumple con la norma NTE INEN 1528 (2012, p.4). Los microorganismos mencionados son indicativos de contaminación de procedencia fecal, al cumplir con estos parámetros es aceptable el producto final, sin embargo, por la presencia elevada de microorganismos mencionados anteriormente en el queso, su calidad higiénica y sanitaria no es adecuada para el consumo humano. Estudios realizados en establecimientos artesanales indican presencia de estos microorganismos en los quesos frescos, (Cristóbal y Mautua (2003: p.1) obtuvieron recuentos de  $(9,33 \times 10^2)$  NMP/g de coliformes totales y  $(2,63 \times 10^2)$  NMP/g de *E. coli* en la evaluación de quesos artesanales comercializados en Lima-Perú; Vasek et al. (2008, p.14) en su estudio expone los siguientes resultados para quesos de producción artesanal en la región correntina en Argentina:  $(4,88 \pm 1,41)$  log NMP/g en Coliformes y  $(2,99 \pm 1,75)$  log UFC/g en *E. coli*.

Al ser la salmuera una solución donde reposa el queso fresco para su salado, es importante su análisis microbiológico ya que puede constituir una fuente de contaminación para el producto final. Los resultados fueron favorables debido a que no se encontró presencia de Coliformes ni de *Escherichia coli* en su determinación. Temelli et al. (2006: p. 859) analizó la salmuera en la producción del queso turco y determinó que existía presencia de microorganismos Coliformes con un resultado de  $(1,85 \pm 1,03)$  log UFC/mL.

### 3.3.3. Resultados del Análisis Microbiológico de Superficies.

**Tabla 6-3:** Resultados del análisis microbiológico de Superficies Regulares.

Microorganismos / Superficies	N° de Muestreo	Aerobios mesófilos	<i>Staphylococcus aureus</i>	Coliformes	<i>Escherichia coli</i>
		UFC/cm <sup>2</sup>			
Marmita Base	1	9,00	0,60	0,00	0,00
	2	15,80	0,00	1,60	0,00
	3	8,80	0,00	0,60	0,00
Marmita Pared	1	54,20	0,00	0,00	0,00
	2	1,25 x 10 <sup>2</sup>	0,60	0,00	0,00
	3	36,00	0,60	0,40	0,00
Mesa Centro	1	9,84 x 10 <sup>2</sup>	6,80	2,00 x 10 <sup>4</sup>	0,00
	2	2,72 x 10 <sup>2</sup>	6,00	1,33 x 10 <sup>4</sup>	0,00
	3	2,34 x 10 <sup>2</sup>	1,60	2,00 x 10 <sup>4</sup>	0,20
Mesa Esquina	1	1,34 x 10 <sup>2</sup>	1,07 x 10 <sup>2</sup>	3,60	1,20
	2	1,40 x 10 <sup>2</sup>	51,80	2,00	0,00
	3	1,52 x 10 <sup>2</sup>	42,60	2,60	0,80
Moldes	1	2,46 x 10 <sup>2</sup>	2,10	4,20	1,80
	2	2,54 x 10 <sup>2</sup>	2,20	3,60	1,30
	3	1,84 x 10 <sup>2</sup>	1,90	4,50	2,00
Prensa Base	1	5,00 x 10 <sup>5</sup>	1,17 x 10 <sup>3</sup>	1,95 x 10 <sup>2</sup>	0,00
	2	5,00 x 10 <sup>5</sup>	2,54 x 10 <sup>3</sup>	90,00	0,00
	3	5,00 x 10 <sup>5</sup>	9,70 x 10 <sup>2</sup>	1,50 x 10 <sup>2</sup>	0,00
Prensa Plancha	1	2,00 x 10 <sup>4</sup>	0,00	9,60	0,80
	2	2,00 x 10 <sup>4</sup>	1,00	7,20	0,00
	3	2,00 x 10 <sup>4</sup>	0,80	11,80	0,60
Mallas	1	1,37 x 10 <sup>2</sup>	2,50	3,20	0,00
	2	1,22 x 10 <sup>2</sup>	2,60	1,40	0,00
	3	1,20 x 10 <sup>2</sup>	3,90	1,50	0,10
Balde	1	1,43 x 10 <sup>2</sup>	1,60	3,00	0,80
	2	88,40	1,40	1,00	0,00
	3	1,61 x 10 <sup>2</sup>	1,40	0,40	0,00
Gavetas	1	2,00 x 10 <sup>4</sup>	13,60	2,00	0,20
	2	1,34 x 10 <sup>4</sup>	11,90	1,80	0,00
	3	2,00 x 10 <sup>4</sup>	17,10	0,50	0,10
Fundas	1	16,50	0,00	0,00	0,00
	2	11,80	0,10	0,90	0,10
	3	6,60	0,10	0,00	0,00

Realizado por: Verónica Contero. 2017



En la Tabla 6-3 se muestran los resultados de los tres muestreos donde se analizó el número de microorganismos Aerobios mesófilos, *Staphylococcus aureus*, Coliformes y *Escherichia coli* presentes en superficies regulares de equipos y materiales utilizados en la producción artesanal de queso fresco. No existe normativa en el Ecuador que establezca límites de presencia de microorganismos en superficies de equipos, materiales y utensilios utilizados en la elaboración de alimentos, sin embargo se comparó los resultados con normativas emitidas por otros países.

En la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1, emitida por la Secretaría de Salud (1994, p. 36) se establece que el recuento total de aerobios mesófilos debe ser  $< 400 \text{ UFC/cm}^2$ , en base a esto se tiene que en sus tres muestreos cumplen con la normativa las siguientes superficies de materiales y equipos: Base y pared de la marmita, esquina de la mesa donde se elaboran los quesos, moldes, mallas, balde y las fundas donde se coloca el producto final; la superficie central de la mesa incumple solamente en el primer muestreo; mientras que en los tres muestreos la base y plancha de la prensa así como las superficies de las gavetas donde se almacena el queso, sobrepasan el valor de referencia para la flora aerobia mesófila, por lo mismo estos últimos pueden constituir una fuente de contaminación al entrar en contacto con el producto final. El recuento alto en la prensa puede deberse a que ésta es de madera y al encontrarse grietas en ella, es susceptible a contaminación.

La normativa peruana emitida por MINSA (2007, pp. 2-7) para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas, indica que no debe haber presencia de patógenos y el microorganismo *Staphylococcus aureus* al ser causante de infecciones e intoxicaciones alimentarias se considera un germen patógeno. Los resultados presentados en la Tabla 6-3, muestran la ausencia de *S. aureus* en la base de la marmita en el segundo y tercer muestreo, y en el primer muestreo de las superficies (pared de la marmita, plancha de la prensa y las fundas). Por otra parte los recuentos más altos del microorganismo se obtuvieron en los 3 muestreos de la esquina de la mesa de elaboración y en la base de la prensa.

El recuento de Coliformes en las superficies regulares se ha comparado con la normativa Peruana MINSA (2007, pp. 2-7) donde el límite permisible para Coliformes en superficies regulares es  $< 1 \text{ UFC/cm}^2$ . En la Tabla 6-3 se presentan los resultados de los cuales cumplen con la normativa las siguientes superficies: base de la marmita en su muestreo 1 y 2, pared de marmita y fundas en sus 3 muestreos, el balde y las gavetas en el tercer muestreo. Se evidencia por el elevado recuento, que la mayor contaminación con estas bacterias se presenta en los tres muestreos de la mesa centro y base de la prensa. Las bacterias Coliformes constituyen un indicativo de la sanidad e higiene

deficiente en la quesera artesanal, y al ser superficies que entran en contacto con la materia prima y producto final pueden constituir una fuente de contaminación.

En el caso de *Escherichia coli*, no existe normativa que establezca índices permisibles, sin embargo por tratarse de un microorganismo relacionado con la contaminación de origen fecal, su presencia es indicativo de una mala higiene en las superficies donde se presenta. Los resultados expuestos indican presencia de *E. coli* en la tercera muestra del centro de la mesa, muestra 1 y 3 de la esquina de la mesa, en los 3 muestreos tomadas de los moldes, en la muestra 1 y 3 de la plancha de la prensa, en el tercer muestreo de las mallas, en la muestra 1 del balde, en las muestras 1 y 3 de las gavetas y en la segunda muestra de las fundas. Con estos resultados se evidencia la inadecuada limpieza y desinfección de equipos y materiales utilizados en el establecimiento artesanal.

Temelli et al. (2006: p.859) determinó las fuentes de contaminación microbiológica en la producción de queso blanco turco. Obtuvo resultados expresados en log UFC/cm<sup>2</sup> para: Aerobios mesófilos (2,69 ± 1,46) en moldes, (1,34 ± 1,73) en mallas, (2,63 ± 1,66) en el agitador; *S. aureus* (0,62 ± 1,31) en moldes, < 2,0 en mallas y agitador; y para Coliformes (0,20 ± 0,42) en moldes, < 1,0 en mallas y (0,56 ± 1,19) en el agitador; con cual concluyó que los instrumentos al entrar en contacto con el producto constituyen una fuente importante de contaminación.

**Tabla 7-3:** Resultados del análisis microbiológico de Superficies Irregulares.

Microorganismos / Superficies	N° de muestreo	Aerobios mesófilos	<i>Staphylococcus aureus</i>	Coliformes	<i>Escherichia coli</i>
		UFC/superficie			
Lira	1	5,00 x 10 <sup>5</sup>	2,88 x 10 <sup>3</sup>	85,00	5,00
	2	3,34 x 10 <sup>5</sup>	5,20 x 10 <sup>2</sup>	65,00	0,00
	3	5,00 x 10 <sup>5</sup>	1,14 x 10 <sup>3</sup>	1,70 x 10 <sup>2</sup>	0,00
Agitador	1	2,93 x 10 <sup>3</sup>	1,15 x 10 <sup>2</sup>	10,00	0,00
	2	3,05 x 10 <sup>3</sup>	1,10 x 10 <sup>2</sup>	35,00	0,00
	3	3,52 x 10 <sup>3</sup>	40,00	20,00	0,00
Termómetro	1	5,00 x 10 <sup>5</sup>	4,90 x 10 <sup>2</sup>	4,25 x 10 <sup>2</sup>	0,00
	2	5,00 x 10 <sup>5</sup>	3,45 x 10 <sup>2</sup>	3,20 x 10 <sup>2</sup>	0,00
	3	3,35 x 10 <sup>5</sup>	2,85 x 10 <sup>2</sup>	1,60 x 10 <sup>2</sup>	0,00

Realizado por: Verónica Contero. 2017

Se exponen en la Tabla 7-3 los resultados de los tres muestreos en el análisis microbiológico de los materiales de superficies irregulares como son la lira, el agitador y termómetro, donde se determinó los siguientes microorganismos: aerobios mesófilos, *Staphylococcus aureus*, Coliformes y *Escherichia coli*. El recuento de aerobios mesófilos fue elevado en los tres muestreos de las superficies de lira, agitador y termómetro, no se encontró valores de referencia para el microorganismo en superficies irregulares, sin embargo, los elevados valores constituyen un indicativo de las inadecuadas prácticas de higiene y sanidad.

En la normativa Peruana MINSA (2007, pp. 2-7) se establece la ausencia de patógenos en superficies, como el microorganismo *Staphylococcus aureus*, por ser causante de tóxico-infecciones de origen alimentario. Se evidencia crecimiento y altos recuentos de *S. aureus* en todas las superficies irregulares muestreadas, por lo que incumple con la normativa establecida.

El recuento de Coliformes en superficies irregulares se ha comparado con la normativa Peruana MINSA (2007, pp. 2-7) donde el límite permisible es  $<10$  UFC/cm<sup>2</sup>, como se observa en la tabla ninguna de las superficies cumple con lo establecido en la norma, los recuentos más altos se presentan en la lira y termómetro.

En los resultados de *Escherichia coli* en las superficies irregulares, se obtuvo en el primer muestreo crecimiento de (5 UFC/lira) y no se encontró presencia de la misma en los demás materiales analizados, la bacteria está relacionada con contaminación de origen fecal.

#### 3.3.4. Resultados del Análisis Microbiológico de los manipuladores de alimentos.

**Tabla 8-3:** Resultados del análisis microbiológico de los manipuladores de alimentos.

Microorganismos / Manipuladores	Aerobios mesófilos	<i>Staphylococcus aureus</i>	Mohos y Levaduras
	Log UFC/manos	Log UFC/manos	Log UFC/manos
Manipulador 1	5,70	5,64 ± 0,10	2,74 ± 0,02
Manipulador 2	5,64 ± 0,10	2,80 ± 0,10	2,43 ± 0,04

Realizado por: Verónica Contero. 2017

En la Tabla 8-3 se muestra los valores que indican la presencia de aerobios mesófilos, *Staphylococcus aureus*, mohos y levaduras en las superficies vivas muestreadas, en este caso la mano del manipulador 1 y 2, los datos se encuentran expresados en Log UFC/mano, estos indican el resultado de la media de tres muestreos y su desviación estándar.

En el Ecuador no existe una técnica sobre criterios de evaluación microbiológica de superficies vivas, por lo que se hace referencia a la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1, emitida por la Secretaria de Salud (1994, p. 36), donde está establecido los límites microbiológicos para aerobios mesófilos, mismos que deben ser  $< 3,48$  Log UFC/manos. Se observa en la tabla que los valores del recuento sobrepasan el límite mencionado, lo que puede indicar la falta de higiene del personal, sin embargo, al tratarse de aerobios mesófilos no se especifica que esta flora sea patógena o no. Investigadores obtuvieron crecimiento de A. mesófilos en manos del manipulador en sus estudios, obteniendo resultados de  $(4,59 \pm 0,71)$  y  $(5,04 \pm 0,40)$  log UFC/cm<sup>2</sup> (Temelli et al., 2006: p.859);  $(4,99 \pm 2,80)$  log UFC/mL (Sánchez et al., 2016: p.464).

Se ha tomado en cuenta también a la normativa peruana emitida por el MINSA (2007, pp. 2-7) “Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas”, la cual establece que el límite permisible para *Staphylococcus aureus* en superficies vivas es  $< 2$  Log UFC/mano. Se muestra en la Tabla 8-3 que los datos superan el límite establecido, lo cual también constituye la evidencia de una higiene inadecuada del manipulador, esto puede deberse, a la capacitación insuficiente en cuanto a hábitos y educación sanitaria. Según Flórez (2007, pp. 1-12) la práctica y experiencia del manipulador desempeña un rol muy importante en la preservación de la seguridad alimentaria en la cadena de elaboración del producto, en su estudio encontró presencia de *S. aureus* en las manos de manipuladores, considerando que su capacitación era insuficiente, por lo que sugiere fortalecer la educación del personal para su papel en el cuidado de la salud pública. Estudios han demostrado diferentes porcentajes del microorganismo en dependencia de la población estudiada, encontrándose 35,6 % de *S. aureus* en manipuladores de alimentos (Soto et al., 1996, p.6); otros autores indican la presencia del patógeno en las manos del personal en un recuento de  $(2,25 \pm 1,31)$  y  $(2,66 \pm 1,53)$  log UFC/cm<sup>2</sup> (Temelli et al., 2006: p.859);  $(2,3 - 3,7)$  log UFC/cm<sup>2</sup> (Castañeda et al., 2016: p.3) y 4,34 log UFC/hisopo (Rola et al., 2016: p.1).

Los resultados de Mohos y levaduras en las manos de los manipuladores, evidencian la escasa higiene del personal y la falta prácticas correctas en la elaboración del queso fresco, puesto que las manos entran en contacto con las materias primas y producto terminado en el proceso, estas pueden influir o constituir una fuente de contaminación para ellos. Sánchez et al. (2016: p.464)

analizó la calidad sanitaria en las queserías artesanales del municipio de Zacazonapan – México y encontró un resultado promedio de  $(5,07 \pm 2,84)$  log UFC/mL de mohos y levaduras en manipuladores de alimentos.

### 3.3.5. Resultados del Análisis Microbiológicos del Ambiente.

**Tabla 9-3:** Resultados del análisis microbiológico del ambiente.

Zonas	Aerobios mesófilos
	Log UFC/m <sup>3</sup>
Recepción Inicio	6,58 ± 0,10
Recepción Fondo	3,43 ± 0,19
Producción Inicio	6,58 ± 0,10
Producción. Fondo	3,87 ± 0,05
Cuarto Frío	3,04 ± 0,16
S.S.H.H	4,05 ± 0,30

Realizado por: Verónica Contero. 2017

Se presenta en Tabla 9-3 los resultados de aerobios mesófilos en diferentes zonas o ambientes de la quesera artesanal COD.Q4, los valores expuestos son el promedio de tres muestreos y están expresados en log UFC/m<sup>3</sup>.

En el Ecuador no existe normativa de ambiente para establecimientos de producción alimenticia, sin embargo la norma UNE 100012 (2005) sobre higienización de sistemas de climatización establece estándares microbiológicos en ambientes interiores, donde el límite permisible para aerobios mesófilos es  $< 2,9$  log UFC/m<sup>3</sup>, en base a esto se evidencia que los resultados no cumplen con los índices mencionados por la norma.

Los resultados elevados puede deberse a múltiples factores, en el establecimiento artesanal evaluado el ambiente es susceptible a contaminación porque su espacio presenta entradas de aire del exterior a través de puertas y ventanas, no presenta ningún sistema de aire acondicionado que permita la purificación del aire en la planta de elaboración del queso fresco y no existe control en

el ingreso del personal o restricción personas visitantes ajenas al establecimiento, los cuales pueden aportar una carga de microorganismos al medio. Por otro lado los pisos paredes y techos no son de superficie lisa y contienen grietas que por la dificultad de una limpieza adecuada permiten el crecimiento de microorganismos actuando como amplificadores de la contaminación biológica aportada (Ortiz y Catalán, 2007: pp. 27-29).

## CONCLUSIONES

- En la evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de la quesera artesanal COD.Q4, el porcentaje de cumplimiento de Prácticas Correctas de Higiene fue de 27,84% y 72,16 % de incumplimiento de los requerimientos establecidos por ARCSA en la Resolución 057-2015-GGG. El porcentaje obtenido indica las deficiencias en la aplicación de PCH en la cadena de producción a nivel artesanal.
- En cuanto al análisis - físico químico se obtuvo que la densidad, acidez y presencia de antibióticos en leche cruda cumplen con la normativa NTE INEN 0009:2012, la densidad del suero lácteo y su acidez, se encuentran dentro del índice permisible en la norma NTE INEN 2594:2011, siendo los resultados satisfactorios para la calidad físico química de las materias analizadas.
- La leche cruda tubo una carga microbiana elevada de aerobios mesófilos y Enterobacterias, no se evidenció presencia de *Staphylococcus aureus*, su contaminación puede deberse a la falta de mantenimiento en cadena de frío e inadecuada manipulación de la misma, sin embargo los resultados de leche pasteurizada cumplen los requisitos dados en la norma, lo que nos indica que los patógenos fueron destruidos en el proceso de pasteurización debido a las altas temperaturas empleadas en la operación, dando como resultado una leche de calidad aceptable para la elaboración de derivados lácteos.
- El suero incumple con los límites establecidos en normativa para aerobios mesófilos, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y se encontró presencia en gran escala de Enterobacterias y Coliformes. Se evidencia que el suero está contaminado con una alta carga de microorganismos que indican su mala calidad microbiológica.
- El queso fresco está contaminado con microorganismos que pueden causar infecciones e intoxicaciones alimentarias por lo que su calidad no es aceptable, no obstante, la ausencia de *E. coli* es un indicativo de que no existe contaminación de origen fecal.
- En la salmuera se evidenció recuentos elevados de aerobios mesófilos y *Staphylococcus aureus*, que pueden constituir una fuente de contaminación para el queso fresco.

- Las superficies inertes se encontraron altamente contaminadas con aerobios mesófilos, *S. aureus* y Coliformes, se evidenció *Escherichia coli* en algunas de ellas. En las superficies vivas los recuentos de aerobios mesófilos, *S. aureus*, Mohos y levaduras fueron elevados, al entrar en contacto con materias primas, producto en proceso y producto final se genera una contaminación cruzada, evidenciando las malas prácticas higiénico-sanitarias del personal.
  
- La carga elevada de aerobios mesófilos presente en el ambiente puede ser consecuencia de los incumplimientos en las condiciones mínimas básicas, diseño, construcción y estructura del establecimiento artesanal.



## RECOMENDACIONES

- Mejorar las condiciones básicas necesarias para lograr el cumplimiento de los parámetros de las Prácticas Correctas de Higiene.
- Realizar capacitaciones periódicas al personal manipulador de alimentos para que conozca y ponga en práctica normas higiénicas y sanitarias en la elaboración del queso fresco y así mejorar su calidad microbiológica.
- Analizar la calidad del agua utilizada en la producción puesto que esta es utilizada para todos los procesos en la elaboración del queso.
- Complementar el análisis microbiológico con la determinación de microorganismos como *Salmonella* y *Listeria*.
- Concienciar a todo el personal implicado en la elaboración artesanal del queso, sobre la importancia de ofrecer al consumidor un producto de calidad sanitaria.

## BIBLIOGRAFÍA

**ACOSTA, N.** "Identificación de riesgos químicos asociados al consumo de leche cruda bovina en Colombia". *Instituto Nacional de Salud* [en línea], 2011, (Bogotá), pp. 17-52.

[Consulta: 02 febrero 2017] Disponible en:

<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/Er-peligros-quimicos-en-leche.pdf>.

**AGUDELO GÓMEZ, D.** "Composición nutricional de la leche de ganado vacuno". *Revista Lasallista de Investigación* [en línea], 2005, (Colombia) 2(1), pp.38-42. [Consulta: 24 enero 2017]. ISSN: 1794-4449. Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/695/69520107/index.html>.

**ÁLVAREZ, G.** "Calidad de la leche cruda en unidades de producción familiar del sur de Ciudad de México". *Arch Med Vet*, vol. 44, (2012), (México) pp. 237-242.

**AGENCIA NACIONAL DE REGULACIÓN, CONTROL Y VIGILANCIA SANITARIA (ARCSA).** "Resolución ARCSA-057-2015-GGG". (2015), (Ecuador) pp. 1-25.

**ARGUELLO, P., et.al.** "Calidad microbiológica de los quesos artesanales elaborados en zonas rurales de Riobamba (Ecuador)". *Revista Perspectiva*, vol. 16, n° 18 (2015), (Ecuador) pp. 65-74. ISSN: 1996-5257

**ARTICA MALLQUI, L.** *Métodos para el análisis físico químico de la leche y derivados lácteos* [en línea]. 2da Edición. Huancayo - Perú: Libros y editoriales, TEIA. Ltd., 2014. [Consulta: 31 enero 2017]. Disponible en: <http://es.slideshare.net/carlosluisalvarezdiaz/metodos-deanalisisdeleche2014>.

**BARCA, J.** *Evaluación higiénico-sanitaria de Quesos Artesanales producidos en la zona litoral oeste, Uruguay* [en línea]. Uruguay: 2014. [Consulta: 21 marzo 2017]. Disponible en: <https://www.colibri.udelar.edu.uy/handle/123456789/2712>

**BERMÚDEZ, S.** "Microbiología General. Técnicas de Siembra". *Medicina Veterinaria Unipaz*, 1987, pp.1-4.

**BOGOMOLOVA, E.; KIRTSIDELI, I.** "Airborne fungi in four stations of the St. Petersburg Underground railway system". *International Biodeterioration and Biodegradation* [en línea], 2009, 63 (2), pp. 156-160. [Consulta: 13 marzo 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0964830508001510>.

**BRITANIA LABS.** "Manitol Salado Agar". *Laboratorios Britania* [en línea], 2011, pp. 1-2. [Consulta: 23 marzo 2017]. Disponible en: [http://www.britanialab.com/productos/B02118REV01-MANITOL SALADO AGAR.pdf](http://www.britanialab.com/productos/B02118REV01-MANITOL%20SALADO%20AGAR.pdf).

**CALDERÓN, A., et al.** "Evaluación de la calidad de leches en cuatro procesadoras de quesos en el municipio de Montería, Colombia". *Revista MVZ Córdoba* [en línea], 2007, (Colombia) vol. 12, pp. 1-9. [Consulta: 18 marzo 2017]. ISSN 0122-0268. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-02682007000100006&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-02682007000100006&script=sci_arttext).

**CALDERÓN, A., et al.** "Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia". *Revista MVZ Córdoba* [en línea], 2006, (Colombia) 11(1), pp. 725-737. [Consulta: 20 marzo 2017]. ISSN 0122-0268. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0122-02682006000100006](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682006000100006)

**CALDERÓN, A.; RODRÍGUEZ, V.** "Calidad fisicoquímica y microbiológica de leches crudas en empresas ganaderas del sistema doble propósito en Montería (Córdoba)". *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient* [en línea], 2012, (Córdoba) 15(2), pp. 399-407. [Consulta: 18 marzo 2017]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v15n2/v15n2a18.pdf>.

**CASTAÑEDA RUELAS, G.M., et al.** "Detecting Sources of *Staphylococcus aureus* in One Small-Scale Cheese Plant in Northwestern Mexico". *Journal of Food Safety*, (2016) pp. 1-8. ISSN 17454565.

**CASTILLO, G.** Prevalencia de bacterias patógenas en quesos frescos elaborados artesanalmente

en las parroquias rurales del cantón Riobamba (Tesis). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ciencias, Escuela de Boquímica y Farmacia. Ecuador. 2013. p. 18.

**CELIS, M.; JUAREZ, D.** "Microbiología de la leche". *Universidad Tecnológica Nacional* [en línea], 2009, pp. 12-18. Disponible en: [http://www.edutecne.utn.edu.ar/sem\\_fi\\_qui\\_micrb\\_09/microbiologia\\_leche.pdf](http://www.edutecne.utn.edu.ar/sem_fi_qui_micrb_09/microbiologia_leche.pdf).

**CÓDEX ALIMENTARIUS.** *Manual de Procedimiento* [en línea]. 2015. [Consulta: 2 febrero 2017]. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/329686664/Manual-de-Procedimiento-comiccion-Del-Codex-Alimentarius>.

**COVENIN 3821.** *Norma Venezolana. Queso Blanco* [en línea]. Venezuela, 2003. pp. 1-10. [Consulta: 21 marzo 2017]. Disponible en: <http://www.sencamer.gob.ve>.

**CRISTÓBAL, R.; MAURTUA, D.** "Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* spp". *Revista Panamericana de Salud Pública* [en línea], 2003, (Perú) 14(3), pp. 158-164. [Consulta: 21 marzo 2017]. ISSN 10204989. Disponible en: <http://www.ingentaconnect.com/content/paho/pajph/2003/00000014/00000003/art00002#avail>.

**DOMINGUEZ, A.** "Alimentos artesanales y tradicionales: El queso Oaxaca como un caso de estudio del centro de Mexico". *Estudios Sociales* [en línea], 2011, (México), 19(38), pp. 165-193. [Consulta: 17 febrero 2017]. ISSN 01884557. Disponible en: <http://www.ciad.mx/coordinaciones/desarrollo-regional/revista-estudios-sociales/numerosvistaelectronica.html%5Cnhttp://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=ecn&AN=1301765&site=ehost-live&scope=site>.

**FARÍA, J., et al.** "Resistencia a los antimicrobianos y concentración mínima inhibitoria ( CIM ) de Enterobacteria aisladas de leche cruda". *Revista Científica, FCV-LUZ*, vol. VIII, (1998). pp. 315-322.

**FLÓREZ, A.** "Factores relacionados con enfermedades transmitidas por alimentos en restaurantes de cinco ciudades de Colombia". *Infectio* [en línea], 2007, (Colombia) 12(4). pp. 1-12. [Consulta: 23 febrero 2017]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/262446831\\_Factors\\_related\\_to\\_foodborne\\_diseases\\_in\\_restaurants\\_from\\_5\\_Colombian\\_cities\\_2007](https://www.researchgate.net/publication/262446831_Factors_related_to_foodborne_diseases_in_restaurants_from_5_Colombian_cities_2007)

**FOOD SAFETY INNOVATION.** *La calidad de agua y su importancia para la industria de alimentos* [en línea], 2013. [Consulta: 16 marzo 2017]. Disponible en: <http://www.ideafoodsafetyinnovation.com/newsletters/2013/09/la-calidad-del-agua-y-su-importancia-para-la-industria-de-alimentos/>.

**FRAZIER, W.; WESTHOFF, D.** *Microbiología de alimentos*. 3era Edición. España: Zaragoza, 1978, pp. 274-276

**GASPAR, G.** *Calidad de la leche cruda. Primer Foro sobre Ganadería Lechera de la Zona Alta de Veracruz* [en línea], México: 2010. [Consulta: 7 febrero 2017]. Disponible en: [http://www.uv.mx/apps/agronomia/foro\\_lechero/Bienvenida\\_files/CALIDADDELALACHERUDA.pdf](http://www.uv.mx/apps/agronomia/foro_lechero/Bienvenida_files/CALIDADDELALACHERUDA.pdf).

**GIL HERNÁNDEZ, Á.** Composición y calidad nutritiva de los alimentos. *Tratado de nutrición. Tomo II*. 2da Edición. España: Ed. Médica Panamericana, 2010, pp. 11-14.

**GRANDOS CONDE, C., et al.** "Calidad de la leche y del suero costeño de los municipios Turbaco, Arjona y Carmen de Bolívar - Colombia". *Revista Lasallista de Investigación*, vol. 9, n.º.2 (2013), (Colombia) pp. 132-137. ISSN 17944449.

**GUERRERO, D., et al.** "Detección de Residuos de Antibióticos B-Lactámicos y Tetraciclinas en Leche Cruda comercializada en el Callao". *Ciencia e Investigación* [en línea], 2009, pp. 79-82. [Consulta: 20 marzo 2017]. ISSN 1098-6596. Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v12\\_n2/pdf/a05v12n2.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v12_n2/pdf/a05v12n2.pdf).

**HEER, G.** "Microbiología de la Leche". *Journal of Chemical Information and Modeling* [en línea], 2013, vol. 53, pp. 1-18. [Consulta: 2 febrero 2017]. Disponible en: <http://www.fcv.unl.edu.ar/archivos/grado/catedras/tecnologialeche/informacion/microbiologia.pdf>.

**HERNÁNDEZ, M.; VÉLEZ, J.** "Suero de leche y su aplicación en la elaboración de alimentos funcionales". *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, vol. 8, n°.2 (2014), (México) pp. 1-10.

**INSOTEC.** "Control de calidad en producción de quesos en Pichincha y Cotopaxi". *Ciencia y Tecnología* [en línea], 2013, (Ecuador) 1(4), pp. 1-4. [Consulta: 14 marzo 2017]. Disponible en: <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/1103/1/T-SENESCYT-0270.pdf>.

**JARAMILLO, C.** *Estudio de factibilidad para la creación de un nuevo producto en la línea de lácteos Empresa Toni S.S.* [en línea]. Ecuador: 2015. [Consulta: 24 marzo 2017]. Disponible en: <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/4840/1/T-UCSG-PRE-ECOMD-ADM-35.pdf>

**JIRÓN, W.; ABURTO, E.** *Evaluación higiénico - sanitaria de queseras artesanales en el municipio de Camoapa* [en línea]. Nicaragua: 2007. [Consulta: 17 febrero 2017]. Disponible en: <http://cenida.una.edu.ni/TESIS/TNQ02J61.PDF>.

**KOPPER, G., et al.** *Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico.* [en línea]. 2009. [Consulta: 24 marzo 2017]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i0480s.pdf>.

**LACASA, A.** *Ciencia de la Leche. Principios de la técnica lechera.* 4ta Edición. España: 2003, pp. 10-12

**LANCHIPA, L.; SOSA, Y.** *Evaluación de la carga microbiana patógena en la elaboración del queso fresco en el Distrito de Tacna* [en línea]. Perú: 2003. [Consulta: 17 febrero 2017].

Disponible en: <http://www.unjbg.edu.pe/coin2/pdf/01040700503.pdf>.

**LEMMENS, B.** *Trisensor: Rapid Test Detecting Most of  $\beta$ -Lactams, Sulfamides and Tetracyclines At the Same Time* [en línea], España: 2009. [Consulta: 13 marzo 2017].  
Disponible en: <https://unisensor.be/products/KIT035>.

**LICATA, M.** *Los quesos. Composición, elaboración y propiedades nutricionales* [en línea], Colombia: 2013. [Consulta: 7 febrero 2017]. Disponible en: <http://www.zonadiet.com/comida/queso.htm>.

**LUIGI, T., et al.** "Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda y pasteurizada expendida en el estado Carabobo, Venezuela". *Salus. Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud.*, vol. 17, (2013), (Venezuela) pp. 25-33.

**MAGARIÑOS, H.** *Producción Higiénica de la Leche cruda*. Guatemala, Centroamérica: Producción y servicios incorporados S.A, 2000, pp. 57-60.

**MALDONADO, R.; LLANCA, L.** "Estudio de la calidad del queso de mano comercializado en el municipio girardot, estado Aragua, Venezuela". *Revista científica Maracaibo* [en línea], 2008, (Venezuela) vol. 18. [Consulta: 21 marzo 2017]. Disponible en: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-22592008000400014](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592008000400014).

**MANCILLA, M.** Evaluación de los riesgos asociados a queserías artesanales de la Región de los ríos mediante la aplicación de un instrumento de Buenas Prácticas de Manufactura (Tesis) [en línea]. Universidad Austral de Chile. Chile. 2015. p.47. [Consulta: 08 abril 2017].  
Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2014/fam269e/doc/fam269e.pdf>.

**MÁTTAR, S., et al.** "Detección de Antibióticos en Leches: Un Problema de Salud Pública". *Revista de Salud Pública* [en línea], 2009, vol. 11, pp. 579-590. [Consulta: 20 marzo 2017].  
ISSN 0124-0064. Disponible en: <http://www.scielosp.org/pdf/rsap/v11n4/v11n4a09.pdf>.

**MINISTERIO DE SALUD DEL PERÚ (MINSA).** "Guía Técnica para el Análisis

Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas". *Normas Legales* [en línea], 2007, (Perú) vol. 461, pp. 1-15. [Consulta: 17 febrero 2017]. ISSN 1098-6596. Disponible en: [http://www.sanipes.gob.pe/normativas/8\\_RM\\_461\\_2007\\_SUPERFICIES.pdf](http://www.sanipes.gob.pe/normativas/8_RM_461_2007_SUPERFICIES.pdf).

**MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA DEL ECUADOR (MSP).** "Ministerio De Salud Pública Dirección Nacional De Vigilancia Epidemiológica". *Gaceta epidemiológica semanal* [en línea], 2014, (Ecuador) vol. 14, p.8. [Consulta: 24 marzo 2017]. Disponible en: <http://instituciones.msp.gob.ec/dps/snem/images/gaceta2.pdf>.

**MONSALVE, J.; GONZÁLEZ, D.** "Elaboración de un queso tipo Ricotta a partir de suero lácteo y leche fluida". *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia*, vol. 15, n°.6 ( 2005), (Venezuela) pp. 543-550. ISSN 07982259.

**NEGRI, LIVIA M.** "EL pH y la acidez de la leche". *Manual de Referencias técnicas para el logro de leches de calidad*, (2005), (Argentina) pp. 1-7.

**NEGRONI, R., et al.** "Manual de medios y reactivos del laboratorio de micología". *Gobierno De La Ciudad De Buenos Aires Red*, vol. 2, (2011), (Argentina) pp. 1-50.

**NOA-LIMA, E., et al.** "Evaluación de la presencia de residuos de antibióticos y quimioterapéuticos en leche en Jalisco, Mexico". *Revista Salud Animal* [en línea], 2009, (México) 31(1), pp. 29-33. [Consulta: 20 marzo 2017]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-570X2009000100006](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2009000100006).

**NTE INEN 0009.** "Norma Inen Leche Cruda".

**NTE INEN 0010.** "Leche Pasteurizada. Requisitos".

**NTE INEN 0011.** "Leche. Determinación de la densidad relativa".

**NTE INEN 0013.** "Leche: Determinación de la Acidez titulable"



**NTE INEN 0062.** "Quesos. Clasificación y designaciones".

**NTE INEN 1528.** "Norma General para quesos frescos no madurados".

**NTE INEN 1529-2.** "Control microbiológico de los alimentos. Toma, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológico".

**NTE INEN 1529-5.** "Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos".

**NTE INEN 2594.** "Norma Técnica Ecuatoriana para suero de leche".

**OLIVAS, E.; ALARCÓN, L.** *Manual de prácticas de Microbiología básica y Microbiología de alimentos.* México: 2004, pp. 83-84.

**ORGANISMO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN (COFOCALEC).** *Proyecto de norma mexicana PROY-NMX-F-721-COFOCALEC* [en línea]. 2012. [Consulta: 18 marzo 2017]. Disponible en: [http://www.canilec.org.mx/Circulares\\_2012/93del12/PROY-NMX-F-721-COFOCALEC-2011\\_220312.pdf](http://www.canilec.org.mx/Circulares_2012/93del12/PROY-NMX-F-721-COFOCALEC-2011_220312.pdf).

**ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA (FAO).** *Fichas técnicas. Procesados de lácteos* [en línea], 2010. [Consulta: 24 marzo 2017]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-au170s.pdf>.

**ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA (FAO).** *Prevención de la E.coli en los alimentos* [en línea], 2011. [Consulta: 7 febrero 2017]. Disponible en: [http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/agns/pdf/Preventing\\_Ecoli\\_es.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Preventing_Ecoli_es.pdf).

**ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA**

**AGRICULTURA (FAO).** *Seguridad Alimentaria y Nutricional* [en línea], 2011, vol. 3 (nº.4), pp. 2-8. [Consulta: 17 febrero 2017]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/at772s.pdf>.

**ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA (FAO).** *Producción y productos lácteos: Tipos y características* [en línea], 2013. [Consulta: 17 febrero 2017]. Disponible en: <http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/leche-y-productos-lacteos/tipos-y-caracteristicas/es/#.WJpQRFXhDIU>.

**ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS).** *Enfermedades alimenticias* [en línea]. 2015. [Consulta: 24 marzo 2017]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/foodborne-disease-estimates/es/>.

**ORTIZ, G.; CATALÁN, V.** "Calidad microbiológica en ambientes interiores". *Gestión Práctica de Riesgos Laborales* [en línea], 2007, vol. 170 (nº.40), pp. 26-31. [Consulta: 22 marzo 2017]. ISSN 0717-6163. Disponible en: <http://pdfs.wke.es/8/5/6/1/pd0000018561.pdf>.

**PAREDES MONTOYA, P., et al.** "Características fisicoquímicas y microbiológicas de suero de leche de queso Chihuahua". *Investigación y ciencia* [en línea], 2014, (México), pp. 11-16. [Consulta: 18 marzo 2017]. ISSN 1665-4412. Disponible en: <http://www.investigacionyciencia.es/revistas/investigacion-y-ciencia/numero/429/el-futuro-de-la-energa-elica-8652>.

**PASCUAL, A.; CALDERÓN, M. de R.** "Metodología analítica para alimentos y bebidas". *Microbiología alimentaria*. 2da Edición. España: Ed. Diaz de Santos, 1999, p. 13.

**PAUCAR, E.** *Higiene y manipulación de alimentos de servicio colectivo para empresas* [en línea]. Perú: 2013. [Consulta: 16 marzo 2017]. Disponible en: <http://www4.congreso.gob.pe/ntley/Imagenes/Leyes/30035.pdf>.

**PERIAGO CASTÓN, M.J.** *Higiene, Inspección y Control de Calidad de la leche* [en línea].

2011. [Consulta: 7 febrero 2017]. Disponible en: <http://ocw.um.es/cc.-de-la-salud/higiene-inspeccion-y-control-alimentario/practicar-1/tema-2.pdf>.

**PETRIFILM™ 3M™**. *Guía de interpretación* [en línea]. 2003, pp. 1-80. [Consulta: 14 marzo 2017]. Disponible en: [http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petriefilm\\_guias.pdf](http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petriefilm_guias.pdf).

**POSADA ARIAS, S., et al.** "Caracterización del ordeño manual e identificación de puntos críticos de control para la calidad higiénica de la leche en una finca del norte de Antioquia". *Revista Lasallista de Investigación* [en línea], 2010, (Colombia) vol. 7 (nº. 2), pp. 35-46. [Consulta: 20 marzo 2017]. ISSN 17944449. Disponible en: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=61020745&lang=es&site=ehost-live>.

**PROCURADURÍA FEDERAL DEL CONSUMIDOR (PROFECO)**. "Calidad de quesos". *Revista del consumidor* [en línea], 2000, (México) (nº.278), p.1. [Consulta: 17 febrero 2017]. Disponible en: [http://www.profeco.gob.mx/revista/pdf/est\\_00/quesos.pdf](http://www.profeco.gob.mx/revista/pdf/est_00/quesos.pdf).

**PULGAR, J.**, 1988. Proyecto de Desarrollo lechero. *Curso avanzado de quesería*. Guatemala: 1988, pp. 58-60.

**ROCA FERNÁNDEZ, A.I.** *Composición de la leche de vaca, oveja y cabra para la elaboración de quesos* [en línea]. 2002. [Consulta: 1 febrero 2017]. Disponible en: [http://www.infocarne.com/documentos/composicion\\_leche\\_vaca\\_oveja\\_cabra\\_elaboracion\\_quesos.htm](http://www.infocarne.com/documentos/composicion_leche_vaca_oveja_cabra_elaboracion_quesos.htm).

**ROLA, J., et al.** "Occurrence of *Staphylococcus aureus* on farms with small scale production of raw milk cheeses in Poland". *Toxins*, vol. 8, nº. 3 (2016), (Polonia) pp. 1-9. ISSN 20726651.

**SÁNCHEZ VALDÉS, J., et al.** "Diagnóstico de la calidad sanitaria en las queserías artesanales

del municipio de Zacazonapan, Estado de México". *Salud Publica de Mexico* [en línea], 2016, (México) vol. 58 (nº.4), pp. 461-467. [Consulta: 22 marzo 2017]. ISSN 16067916. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/spm/v58n4/0036-3634-spm-58-04-00461.pdf>.

**SECRETARIA DE SALUD DE MÉXICO.** "Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994: Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos" *Diario Oficial de la Federacion*, vol. 93, (1994), (México) pp. 35-36.

**SOLARTE, T.** *Lácteos: Fuentes de contaminación* [en línea]. Colombia: 2011. [Consulta: 2 febrero 2017]. Disponible en: <http://lacteostama.blogspot.com/p/fuentes-de-contaminacion.html>.

**SOTO, A.** "Prevalencia de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos de una universidad de la Región Metropolitana". *Rev Med Chile*, (1996), (Chile) pp. 2-6.

**SUÁREZ, C., et al.** "Control de calidad físico-químico y microbiológico de leche suministrada al I.C.T.A., proveniente de la region de Umbita (Boyaca)", (2006), (Colombia) pp. 87-93.

**TEMELLI, S., et al.** "Determination of microbiological contamination sources during Turkish white cheese production". *Elsevier* [en línea], 2006, (Turquía) vol. 17, pp. 856-861. [Consulta: 16 marzo 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713505001398?np=y&npKey=ba8ead97bbb7d5b48bf38f919d15b79acb2e8886516658c9e09f7691054a8bf0>.

**TONDO, C., et al.** "Evaluación y análisis de la contaminación de una planta de procesamiento de productos lácteos por *Staphylococcus aureus* usando resistencia a los antibióticos y PFGE". *Canadian Journal of Microbiology* [en línea], 2000, (Canadá) vol. 46, pp. 1108-1114. [Consulta: 20 marzo 2017]. Disponible en: [http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/w00-111#.WM924IU1\\_IW](http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/w00-111#.WM924IU1_IW).

**UNIVERSIDAD ABIERTA Y A DISTANCIA (UNAD).** "Definición, Composición, Estructura y Propiedades de la Leche". *Tecnología de lácteos* [en línea], 2013, vol. 1, pp. 3-5. [Consulta: 7 febrero 2017]. Disponible en: [http://datateca.unad.edu.co/contenidos/301105/Archivos-2013-2/Reconocimiento/301105\\_LECTURA\\_Revision\\_de\\_Presaberes.pdf](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/301105/Archivos-2013-2/Reconocimiento/301105_LECTURA_Revision_de_Presaberes.pdf).

**UNE 100012.** *Normativa para la higienización de sistemas de climatización* [en línea]. España: 2005. [Consulta: 22 marzo 2017]. Disponible en: <http://pdfs.wke.es/8/5/6/1/pd0000018561.pdf>

**VARGAS, T.** "Calidad de la leche: Visión de la industria láctea". *X Congreso Venezolano de Zootecnia. Guanare* [en línea], 2000, (Venezuela), pp. 297-302. [Consulta: 1 febrero 2017]. Disponible en: [http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/xcongreso/P297\\_CalidadLeche.pdf](http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/xcongreso/P297_CalidadLeche.pdf).

**VASEK, O., et al.** "Análisis de riesgos en la elaboración de Queso Artesanal de corrientes (Argentina)". *Facena*, vol. 20, n°.1 (2004), (Argentina) pp. 13-22.

**VASEK, O., et al.** "Producción artesanal de quesos. Sistema de transformación agroalimentario en la región Correntina (Argentina)". *IV Congreso Internacional de la Red SIAL*, (2008), (Argentina) pp. 1-32.

**VITERI, C.A.** "Caracterización fisicoquímica del suero dulce obtenido de la producción de queso casero en el municipio de Pasto". *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, vol. 1, (2014), (Colombia) pp. 22-32.

**VITULICH, C.** "Contaminación bacteriológica de la leche: causas y control- Producción del litoral argentino" [en línea], 2011, (Argentina). [Consulta: 2 febrero 2017]. Disponible en: <http://www.campolitoral.com.ar/index.php/diarios/2011/07/09/laregion/REG-06.html>.

## ANEXOS

### ANEXO A: Lista de verificación de Prácticas Correctas de Higiene.

<b>LISTA DE VERIFICACIÓN DE PRÁCTICAS CORRECTAS DE HIGIENE</b>					
<b>EMPRESA:</b>		<b>Quesera artesanal COD.Q 4</b>			
<b>FECHA DE DIAGNÓSTICO O AUDITORÍA INTERNA:</b> Noviembre 2016					
N°	REQUISITOS	CUMPLE			OBSERVACIONES
		SI	NO	N/A	
<b>REQUISITOS DE LAS INSTALACIONES</b>					
(NORMA APLICABLE: RESOLUCIÓN ARCSA 057_2015 PARA ESTABLECIMIENTOS CATEGORIZADOS COMO ARTESANALES Y ORGANIZACIONES DEL SISTEMA DE ECONOMÍA POPULAR Y SOLIDARIA)					
<b>Condiciones mínimas básicas y localización (Art.4)</b>					
1	El establecimiento está ubicado lejos de fuentes de contaminación?		X		Se encuentra cerca de agua empozada, animales y existe presencia de insectos.
<b>Diseño y construcción (Art. 5)</b>					
2	¿Ofrece protección contra polvo, materias extrañas, insectos, roedores, aves y otros elementos del ambiente exterior?		X		Presente abertura en el techo, no tiene control de plagas, no presenta malla ni rejillas.
3	Las superficies y materiales en especial aquellas que están en contacto directo con los alimentos ¿son de acero inoxidable?		X		Los materiales utilizados son de acero inoxidable, excepto las planchas de madera utilizadas para prensar el queso.
4	El diseño y distribución de las áreas permite una apropiada limpieza desinfección y mantenimiento evitando o minimizando los riesgos de contaminación y alteración.		X		No existe una distribución adecuada de los equipos, debido a que el espacio disponible es reducido.
5	Las instalaciones son adecuadas para mantener la temperatura, humedad y condiciones requeridas por el producto (Cuarto frío).	X			La Quesera si dispone de cuarto frío dentro de su área.
6	¿Las instalaciones cuentan con pediluvio?	X			Cuenta con pediluvio sin embargo el agua contenida en él, no permanece limpia.
7	La disposición interna de las instalaciones facilita la aplicación de las PCH, evitando la contaminación de materias primas y producto final.		X		Los espacios no se encuentran distribuidos adecuadamente
<b>Estructura interna y mobiliario (Art. 6)</b>					
<b>1. Superficies de paredes, techo, piso y drenaje</b>					

8	¿Son de material que facilite la limpieza y no absorba o retenga agua?		X	Presenta grietas en las superficies lo cual retiene el agua.
9	¿Están libres de grietas o rugosidades?		X	Presenta grietas tanto en las paredes como en el piso.
10	¿Evitan la emisión de alguna sustancia tóxica hacia los alimentos?		X	Entra polvo al área de producción.
11	¿Evitan la acumulación de polvo o suciedad?		X	No existen cortinas de plástico que eviten el ingreso de polvo al área de producción.
12	¿El piso cuenta con un sistema de drenaje?	X		
13	Los drenajes están protegidos con rejillas?	X		
14	El flujo de las operaciones sigue una sola dirección a fin de evitar contaminación cruzada.		X	Las áreas se adaptan al espacio disponible en la quesera.
15	Las tuberías y conductos no dejan caer gotas de agua resultantes de la condensación interna sobre los alimentos o superficies de contacto directo con los mismos.		X	Por la falta de ventilación dentro del área de producción puede adherirse gotas de agua producto de la condensación.
<b>2. Ventanas, puertas y otras aberturas</b>				
16	¿Las ventanas cuentan con protección para evitar el ingreso de plagas?		X	No cuenta con malla (mosquitero)
17	¿Las ventanas son de fácil limpieza?	X		
18	¿Las ventanas evitan la acumulación de suciedad?		X	Existe un espacio entre la pared y la ubicación de la ventana lo que ocasiona acumulación de polvo por la presencia de esquinas.
19	¿Las puertas son de superficie lisa y no absorbente?		X	Son de material no absorbente, sin embargo la superficie no es lisa, lo cual dificulta su limpieza.
20	¿Las puertas son de fácil limpieza y desinfección?		X	La superficie de la puerta no es lisa, presentando esquinas que provocan la acumulación de polvo dificultando su limpieza.
21	Las puertas cuentan con cortina de plástico y de aire		X	
<b>3. Equipos, recipientes y utensilios (Art. 7)</b>				
22	Las superficies de trabajo que entran en contacto directo con los alimentos son sólidas, duraderas y fáciles de limpiar, desinfectar y mantener.		X	Cumplen las superficies de acero inoxidable, exceptuando las tablas de madera utilizadas en la prensa no se puede mantener por mucho tiempo debido al

					desgaste que ésta presenta durante su uso.
23	Las superficies de trabajo son de material liso, no absorbente y no tóxico.		X		Las superficies de madera es porosa y se puede desgastar por la fricción y la porosidad puede entrar en contacto con el producto
24	¿El diseño de los equipos permite un desmontaje para facilitar la limpieza?	X			
25	¿Los utensilios y recipientes se encuentran en buen estado?	X			
26	¿Los utensilios y recipientes son reemplazados de acuerdo a su uso?		X		
27	Los equipos están situados y diseñados de manera que son fáciles de limpiar, desinfectar y mantener.		X		Por su diseño es adecuado, sin embargo están situados muy cercanos el uno del otro de acuerdo al espacio disponible, lo que dificulta su limpieza.
<b>Control de equipos ( Art. 8)</b>					
28	Los equipos utilizados para aplicar tratamientos térmicos están diseñados para alcanzar y mantener las temperaturas óptimas para proteger la inocuidad y la aptitud de los alimentos. Pasteurizador de placas, Pasteurización por lote (Marmita)	X			Las marmitas están diseñadas adecuadamente para que sea posible realizar la pasteurización por lote.
29	¿Los equipos cuentan con un diseño que permite vigilar y controlar las temperaturas?		X		Está adaptado un termómetro junto a la marmita, sin embargo el instrumento no está calibrado para permitir el control adecuado de la temperatura.
30	¿Los instrumentos de medición aseguran la eficacia de las mediciones?		X		No existen registros de calibración del termómetro.
<b>Recipientes para Residuos y Sustancias No Comestibles (Art. 9)</b>					
31	¿La planta cuenta con recipientes para los desechos, los subproductos y las sustancias no comestibles?	X			Cuenta con un recipiente para depósito de basura y se utiliza tinas para recolectar el suero que sale del queso.
32	Los recipientes para los desechos, los subproductos y las sustancias no comestibles están identificados.		X		No se encuentran identificados.
33	Los recipientes utilizados para guardar sustancias peligrosas están identificados y se mantienen bajo estricto control, para impedir la contaminación accidental o mal intencionada de los alimentos.		X		
<b>Los servicios ( Art. 10)</b>					
<b>1. Abastecimiento de agua</b>					



34	Dispone de un abastecimiento suficiente y continuo de agua potable, con instalaciones apropiadas para su almacenamiento como tanques y reservorios con tapa.		X		El agua no es potable y proviene de la vertiente, el abastecimiento no es continuo.
35	Se ha realizado análisis físico-químicos y microbiológicos del agua por lo menos una vez al año en un laboratorio acreditado por el organismo correspondiente.		X		No ha realizado ninguna vez el análisis.
<b>2. Agua no potable</b>					
36	El agua no potable es empleada solo para control de incendios, producción de vapor, la refrigeración y otros fines similares donde no contaminen los alimentos.		X		Es empleada para todo el proceso.
37	El sistema de agua no potable está separado y sin conectarse con el sistema de agua potable.		X		Existe un solo sistema de agua (no potable).
38	El sistema de agua potable y no potable se encuentra correctamente identificado.		X		
<b>3. Hielo</b>					
39	El hielo que se utiliza como ingrediente o que entra en contacto directo con el alimento se fabrica con agua potable y está protegido de la contaminación?			X	No se utiliza Hielo para el proceso de elaboración del queso.
<b>4. Vapor de agua</b>					
40	El vapor que entra en contacto con los alimentos o con las superficies de trabajo constituye una amenaza para la inocuidad y la aptitud de los alimentos.			X	
<b>5. Drenaje y eliminación de residuos</b>					
41	Existen instalaciones adecuadas para el drenaje y la eliminación de desechos.		X		No existe un sistema de eliminación de desechos, el suero es almacenado en una tina.
42	Se mantiene un control constante sobre las condiciones de limpieza de los drenajes.		X		No hay controles que compruebe dicho proceso.
43	La salida de desperdicios se hace cuando no se está manipulando el producto.	X			Se realiza al final de la producción del queso.
<b>6. Servicios Higiénicos</b>					
44	¿Existen servicios higiénicos disponibles para el personal?	X			El personal puede acceder a los servicios higiénicos.
45	¿Las instalaciones sanitarias se encuentran fuera de las áreas de producción?	X			

46	¿Existen servicios higiénicos separados tanto para hombres como para mujeres?		X	Existe un solo servicio higiénico.
47	¿Los servicios higiénicos se hallan limpios y ventilados?		X	No se encuentran en condiciones higiénicas adecuadas.
48	¿Se dispone de dispensador de jabón, papel higiénico, implementos para secado de manos, recipientes cerrados y con una funda plástica para el depósito de material usado en las instalaciones sanitarias?		X	Solo se dispone de jabón y papel higiénico.
49	¿Cuenta con un área específica para colocar los artículos personales?		X	Los artículos personales los guarda dentro del domicilio.
50	¿Existen avisos alusivos al procedimiento de lavado de manos en las proximidades de los lavamanos?		X	
51	¿Existen estaciones de lavado de manos (para lavarse y desinfectarse las manos) situadas en el ingreso del área de proceso?		X	El único lavamanos es en el servicio higiénico de la quesera.
<b>7. Área de limpieza</b>				
52	Es suficiente el suministro de agua potable para lograr la limpieza adecuada de las instalaciones, equipos, utensilios.		X	El abastecimiento no es continuo, y el agua no es potable.
53	Se dispone de instalaciones adecuadas para la limpieza de equipos y utensilios que no generen contaminación cruzada hacia los alimentos elaborados.		X	El espacio disponible para la limpieza no es adecuado para evitar ésta contaminación.
<b>8. Control de la temperatura</b>				
54	Las instalaciones disponen de las facilidades para llevar a cabo los procesos de calentamiento, cocción, enfriamiento, refrigeración y almacenamiento de alimentos.	X		Para el proceso de calentamiento la empresa dispone de un caldero, y para la refrigeración y almacenamiento del queso, se dispone de cuarto frío.
<b>9. Calidad de aire y ventilación</b>				
55	Se dispone de medios adecuados de ventilación para prevenir la condensación de vapor, entrada de polvo y remoción de calor.		X	No se dispone de éstos medios.
56	Se evita el ingreso de aire desde un área contaminada a una limpia, y los equipos tienen un programa de limpieza adecuado.		X	La quesera no cuenta con áreas divididas, las ventanas y puertas se encuentran abiertas en todo momento lo que deja libre la entrada de polvo, los equipos no cuentan con un programa de limpieza.

57	Existe un control de olores que puedan afectar aptitud del producto?			X	
<b>10. Iluminación</b>					
58	Se dispone de iluminación natural o artificial adecuada para el desarrollo de las operaciones de manera higiénica y eficiente.	X			Si dispone de iluminación tanto natural como artificial.
59	Las lámparas en las áreas de producción, almacenamiento de materias primas y producto terminado cuentan con sistemas de protección para garantizar que los alimentos no se contaminen en caso de roturas.		X		
<b>11. Instalaciones eléctricas y redes de agua</b>					
60	No existen cables colgantes en el área de manipulación de alimentos.		X		Existen cables colgados y descubiertos en el área de producción de los alimentos.
61	Se hallan identificadas las líneas de fluido (tuberías de agua potable, agua no potable, tuberías de vapor, tuberías de combustible).		X		La única entrada de agua que existe es el agua no potable
<b>Requisitos relativos a las materias primas (Art.11)</b>					
62	Se rechaza los productos que están contaminados con insectos, parásitos, microorganismos indeseables, plaguicidas, medicamentos veterinarios, sustancias tóxicas, materia descompuesta o extraña que no se podrá reducir durante el proceso.		X		No se realiza el análisis para conocer si la leche está libre de éstos contaminantes.
<b>Contaminación cruzada (Art. 12)</b>					
63	¿Se separan a la materia prima del producto terminado?	X			La leche se encuentra en un tanque de acero inoxidable, y el queso es almacenado en el cuarto frío.
64	Se limpia y desinfecta las superficies, utensilios, equipos y accesorios después de procesar la leche.		X		
65	Se protege la materia prima, producto en proceso y el producto terminado de la contaminación física y química.		X		No existe un sistema de protección
<b>Higiene del personal (Art.13)</b>					
<b>1. Estado de salud</b>					
66	¿El personal manipulador de alimentos se somete a un reconocimiento médico antes de desempeñar funciones?		X		Las personas que elaboran en la quesera son familiares por lo tanto no exigen un control médico previo

67	¿Se toma las medidas preventivas para evitar que labore el personal sospechoso de padecer enfermedades infecciosas susceptibles de ser transmitido por alimentos?		X		No debido a que el personal no se somete a exámenes de rutina constantemente.
<b>2. Aseo personal</b>					
68	¿El personal utiliza vestimenta limpia exclusivamente en el área de producción de alimentos, de preferencia debe ser de color claro?		X		Su ropa es de uso diario por consiguiente no posee uniforme
69	¿El calzado es adecuado para el proceso productivo?	X			El personal utiliza botas de caucho.
70	¿El personal cubre el cabello en el área de producción?	X			El personal utiliza gorro para cubrir el cabello.
71	¿El personal se lava frecuentemente las manos; antes de comenzar o cambiar cualquier operación del proceso, después de usar los baños y después de manipular materia prima o alimentos crudos?		X		El personal no se lava frecuentemente las manos, no existe un lavamanos cercano, sin embargo hay una llave de agua en el área de producción.
<b>3. Comportamiento del personal</b>					
72	¿El personal acata las normas establecidas que señalan la prohibición de fumar y consumir alimentos y bebidas?	X			Dentro de la quesera se respeta las normas establecidas.
73	¿El personal de áreas productivas mantiene el cabello cubierto, uñas cortas, sin esmalte, sin joyas, sin maquillaje, barba o bigote cubiertos durante la jornada de trabajo?		X		No existe un completo control del personal previo al ingreso al área de producción.
<b>4. Visitantes</b>					
74	¿Los visitantes utilizan ropa protectora y cumplen con todas las recomendaciones de higiene personal?		X		Los visitantes no ingresan con la vestimenta adecuada a la zona de producción.
75	¿Las personas se lavan y desinfectan las manos al ingresar a las áreas de manipulación de alimentos?		X		No existe un lugar cercano para lavarse y desinfectarse las manos.
76	¿Se controla el acceso del personal y de los visitantes a la planta de alimentos, para prevenir la contaminación?		X		No existe un control
77	¿Existen avisos en lugares visibles referentes a la higiene, el lavado de manos y los procedimientos de producción; y se vigilar su cumplimiento?		X		No se dispone de señalética.
<b>Capacitación (Art. 14)</b>					
<b>1. Conocimientos y las responsabilidades</b>					

78	¿El personal conoce sus funciones y la responsabilidad de proteger los alimentos de la contaminación y el deterioro?	X			El personal posee dichos conocimientos.
79	¿El personal conoce como manipular el producto final en condiciones higiénicas?	X			Si conoce las condiciones higiénicas adecuadas, sin embargo en ocasiones no lo lleva a la práctica.
80	¿El personal encargado conoce como manipular productos químicos?		X		El personal desconoce la manipulación correcta de éste tipo de productos.
81	¿El personal está capacitado sobre cómo realizar las operaciones durante el proceso?	X			El conocimiento de los trabajadores fue adquirido de las experiencias profesionales
82	¿El personal conoce, según corresponda, los programas de limpieza y desinfección y de control de plagas?	X			Posee los conocimientos para la ejecución de las actividades que correspondan.
<b>2. Programas de capacitación</b>					
83	¿El personal es capacitado de manera general en los procedimientos para obtener el producto final, recepción de materia prima, manejo de registros y riesgos de contaminación?		X		No llevan a cabo capacitaciones en el establecimiento.
<b>Control de las operaciones ( Art. 15)</b>					
84	¿Se ejecutan controles que ayuden a disminuir riesgo de contaminación microbiana durante el proceso?		X		No realizan controles durante el proceso.
<b>Procedimientos y Métodos de Limpieza (Art. 16)</b>					
85	¿Se emplean métodos físicos, tales como aplicación de fricción con cepillos, calor, enjuague, lavado, con flujo turbulento, limpieza por aspiración o métodos químicos como el uso de detergentes cuaternarios, álcalis o ácidos recomendados?		X		Solo utiliza jabón y agua para su limpieza
86	¿La limpieza se realiza de manera ordenada?	X			El personal realiza ordenadamente la limpieza, no cuenta con registros de ésta operación.
<b>Almacenamiento (Art. 17)</b>					
87	¿Se dispone de ambientes separados o independientes, para mantener la seguridad y evitar la contaminación cruzada de materia prima, productos intermedios y productos terminados.	X			Se encuentran separados la leche cruda de la pasteurizada y de la cuajada; el producto terminado es almacenado en el cuarto frío.

88	En función de la naturaleza del alimento los almacenes o bodegas, incluyen dispositivos de control de temperatura y humedad, así como también un plan de limpieza y control de plagas.		X		No se tiene un control adecuado, ni se dispone de programa de limpieza y control de plagas.
89	¿Se evita el contacto del piso al producto terminado mediante uso de estanterías, paletas, etc.?	X			El producto se almacena en gavetas en el cuarto frío.
90	¿Existe acceso restringido a las instalaciones en donde se almacenen sustancias de limpieza y peligrosas?		X		No existe un área específica para almacenar éstas sustancias.
91	Se mantiene un control sobre el almacenamiento de los productos, se recomienda aplicar el sistema PEPS (primero en entrar, primero en salir)?	X			La empresa aplica el sistema, pero no cuenta con documentación o registros.
<b>Empaque ( Art. 18)</b>					
92	¿El material de envasado ofrece una protección de los productos alimenticios para reducir al mínimo la contaminación, evitar daños y colocar el etiquetado correcto de acuerdo a la norma correspondiente?		X		El envase ofrece protección al producto, sin embargo no reduce al mínimo su contaminación por que no es sellado adecuadamente.
93	¿El material de embalaje no constituye un riesgo para la inocuidad y aptitud del producto final?			X	No se utiliza sistema de embalaje.
<b>Control de plagas ( Art. 19)</b>					
94	¿Se cuenta con un sistema de control de plagas?		X		No se realiza éste control.
95	¿Se realizan actividades de control de roedores con agentes físicos dentro de las instalaciones de producción, envase, transporte y distribución de alimentos?		X		No se realiza éste tipo de control.
<b>Transporte ( Art. 20)</b>					
96	¿El transporte mantiene las condiciones higiénico - sanitarias y de temperatura adecuados?		X		En el transporte no se garantiza las condiciones higiénicas ni de temperatura adecuadas.
97	¿Están contruidos con materiales apropiados para proteger al alimento de la contaminación y facilitan la limpieza?		X		
98	¿Evita transportar alimentos junto a sustancias de limpieza, tóxicas o peligrosas?	X			Se transporta solamente el producto terminado, en gavetas.
<b>Documentación y registros ( Art. 21)</b>					

<b>99</b>	¿Existen registros de la producción especialmente de las etapas críticas, de los procedimientos de limpieza, de la distribución, de las condiciones de recepción y almacenamiento de materias primas y producto terminado?		X		No cuenta con ningún tipo de registros.
<b>DEL REGISTRO SANITARIO (CAPÍTULO V) (Art. 24, 25 )</b>					
<b>100</b>	¿Cuenta el producto con un registro/notificación sanitario otorgado por el organismo competente?		X		El producto no cuenta con Registro Sanitario.
<b>101</b>	¿Cuenta el establecimiento con responsable técnico con formación académica en el ámbito de la producción o control de calidad e inocuidad de alimentos?		X		No cuenta con el personal encargado de dichas funciones.
<b>FUENTE: ARCSA, 2015</b>					

**ANEXO B:** Hoja de Recolección de Datos.

<b>1. Ubicación:</b> Comunidad Guntuz	<b>SI/NO</b>	<b>OBSERVACIÓN</b>
<b>2.LA QUESERA CUENTA CON: Instalaciones</b>		
Área de recepción de la materia prima	NO	
Laboratorio de análisis	NO	
Pediluvio	SI	
Área de producción	SI	
Cuarto frío	SI	
S.S.H.H	SI	Fuera del área de producción.
<b>3. Equipos:</b>		
Marmita	SI	
Caldero	SI	
Tanques de almacenamiento	NO	
Prensa	SI	Madera
Mesa de Acero	SI	
<b>4. Utensilios:</b>		<b>Material</b>
Lira	SI	Acero Inoxidable
Agitador	SI	Acero Inoxidable
Baldes	SI	Plástico
Moldes	SI	Acero Inoxidable
Bloques	SI	Madera
<b>5. Número de personal</b>	2	
<b>6. Número de proveedores</b>	28	
<b>7. Litros recolectados diarios</b>	1200	
<b>8. Recipiente que transporta la leche los proveedores</b>		
Ollas	NO	
Baldes	SI	
Baldes de Acero	NO	
Tanqueros	SI	
<b>9. Análisis que realizan a la materia prima (leche)</b>		
Prueba de alcohol	NO	
Acidez	NO	
Densidad	NO	
Antibióticos	NO	
<b>10. Tratamiento térmico de la materia prima</b>		
Temperatura	83 °C	
Tiempo	30 minutos	



<b>Proceso</b>		
Disminución de la Temperatura	57 °C	
Mantenimiento de la Temperatura	57 °C	
<b>11. Insumos (colocar si tiene junto al ítem la marca):</b>		
Cuajo	SI	Formulaza Cuajo Microbiano.
Cloruro de calcio	SI	Calcidin
Sal en grano	SI	-
Salmuera	SI	-
<b>12. Productos lácteos que elaboran</b>		
Queso	SI	
Yogurt	NO	
Otros	NO	
Elabora otros tipos de quesos	NO	Queso Fresco
<b>Presentación:</b>		
500g	NO	
800g	SI	
<b>13. Notificación sanitaria</b>	NO	
<b>14. Devolución de Producto:</b>	NO	
<b>15. ¿En que transportan el producto elaborado?</b>		
Camionetas	SI	
Gavetas	SI	
<b>16. Uniformes de los manipuladores:</b>		
Gorro	SI	
Guantes	NO	
Delantal	SI	
Cofia	NO	
Mascarilla	NO	
Botas	SI	
Otros	NO	
<b>17. Señalética:</b>	NO	
<b>18. Limpieza y desinfección de equipos:</b>	SI	Agua y jabón.
<b>19. Registro de la producción diaria:</b>	SI	
<b>20. ¿Dónde adquieren las fundas?</b>		
Mercados	NO	
Fabricante	SI	Fábrica de Latacunga.
<b>21. Lugar de distribución del producto</b>		
Riobamba	NO	
Guayaquil	SI	
La Libertad	NO	
Milagro	NO	

ANEXO C: Resultados de la prueba de diagnóstico del Manipulador 1.

<b>EVALUACIÓN HIGIÉNICO SANITARIA DE LA QUESERA ARTESANAL COD.Q 4 UBICADA EN LA PARROQUIA QUIMIAG, CANTÓN RIOBAMBA, PROVINCIA DE CHIMBORAZO PRUEBA DE DIAGNÓSTICO - MANIPULADOR DE ALIMENTOS</b>			
<b>PREGUNTA</b>	<b>RESPUESTA</b>		<b>Valoración</b>
	<b>Correcta</b>	<b>Incorrecta</b>	
<b>1. Si uno de los manipuladores padece o es portador de una enfermedad.</b> R: No deberá manipular los productos alimenticios.		X	0
<b>2. Higiene Personal: ¿Cómo debe ser el aseo de las manos?</b> R: Agua y jabón.	X		1
<b>3. ¿Con que frecuencia se lava las manos?</b> R: Antes y después de incorporarse a su puesto de trabajo.	X		1
<b>4. ¿Que deberá realizar el manipulador en caso de corte de las manos?</b> R: Curarse la herida y seguir manipulando los alimentos. Colocarse guantes y seguir trabajando.	X		1
<b>5. ¿Cómo debe ser la vestimenta de los manipuladores para la elaboración del producto?</b> R: Gorro, Mascarilla, Guantes, Delantal plástico impermeable, Botas de caucho.	X		1
<b>6. Los manipuladores de alimentos deben llevar el pelo recogido con gorro o redecilla porque.</b> R: El pelo pueden contaminar los alimentos.	X		1
<b>7. ¿Señale con un visto o una "X" los requisitos que el manipulador debe presentar antes de ingresar al área de producción?</b> R: Uñas cortas y limpias; Usar gorro, mascarilla, delantal impermeable y botas de caucho; Usar el pediluvio.	X		1

<p><b>8. Si mantenemos una correcta higiene en el trabajo lograremos.</b>  R: Que los alimentos no hagan daño al comer.  Que los alimentos tengan mejor aspecto.</p>		X	0
<p><b>9. Que utiliza para la limpieza de los equipos.</b> R:  Agua fría, Cloro, Detergente, Agua caliente,  Lava, Cepillos.</p>	X		1
		TOTAL	7

**ANEXO D:** Resultados de la prueba de diagnóstico del Manipulador 2.

<b>EVALUACIÓN HIGIÉNICO SANITARIA DE LA QUESERA ARTESANAL COD.Q 4 UBICADA EN LA PARROQUIA QUIMIAG, CANTÓN RIOBAMBA, PROVINCIA DE CHIMBORAZO PRUEBA DE DIAGNÓSTICO - MANIPULADOR DE ALIMENTOS</b>			
<b>PREGUNTA</b>	<b>RESPUESTA</b>		<b>Valoración</b>
	<b>Correcta</b>	<b>Incorrecta</b>	
<b>1. Si uno de los manipuladores padece o es portador de una enfermedad.</b> R: No deberá manipular los productos alimenticios.		X	0
<b>2. Higiene Personal: ¿Cómo debe ser el aseo de las manos?</b> R: Agua y jabón.	X		1
<b>3. ¿Con que frecuencia se lava las manos?</b> R: Antes y después de incorporarse a su puesto de trabajo.	X		1
<b>4. ¿Que deberá realizar el manipulador en caso de corte de las manos?</b> R: Curarse la herida y seguir manipulando los alimentos. Colocarse guantes y seguir trabajando.	X		1
<b>5. ¿Cómo debe ser la vestimenta de los manipuladores para la elaboración del producto?</b> R: Gorro, Mascarilla, Guantes, Delantal plástico impermeable, Botas de caucho.	X		1
<b>6. Los manipuladores de alimentos deben llevar el pelo recogido con gorro o redecilla porque.</b> R: El pelo pueden contaminar los alimentos.	X		1
<b>7. ¿Señale con un visto o una "X" los requisitos que el manipulador debe presentar antes de ingresar al área de producción?</b> R: Uñas cortas y limpias; Usar gorro, mascarilla, delantal impermeable y botas de caucho; Usar el pediluvio.	X		1

<p><b>8. Si mantenemos una correcta higiene en el trabajo lograremos.</b>  R: Que los alimentos no hagan daño al comer.  Que los alimentos tengan mejor aspecto.</p>	X		1
<p><b>9. Que utiliza para la limpieza de los equipos.</b> R:  Agua fría, Cloro, Detergente, Agua caliente,  Lava, Cepillos.</p>	X		1
TOTAL			8

**ANEXO E:** Distribución estructural de la Qesera COD.Q4.

