



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“MONITOREO DE LA CALIDAD E INOCUIDAD DURANTE EL  
ALMACENAMIENTO DE QUESO FRESCO ELABORADO  
ARTESANALMENTE EN LAS PARROQUIAS RURALES DEL CANTÓN  
RIOBAMBA”**

**TESIS DE GRADO**  
**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE**  
**BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

**PRESENTADO POR**

**GEOVANNA ALEXANDRA ESTRELLA FLORES**

**RIOBAMBA – ECUADOR**

**2013**

## **DEDICATORIA**

*El presente trabajo lo dedico con mucho amor a mi madre querida Narciza por guiarme durante toda mi vida y darme más que su apoyo el don de la vida y a mi padre Ignacio que juntos han sabido brindarme sus consejos, amor.*

*A Dios por mantener unida a mi familia y protegernos sobre todas las adversidades que se nos ha presentado.*

*A mi madre Virgen Del Cisne, mi guía en todo mi camino transcurrido que desde el cielo me ha bendecido siempre.*

*A mis abuelitos Esther y Espiritu por ser quienes me han enseñado muchos valores con amor.*

*A mi hermano Stalyn por ser mi cómplice en las aventuras que hemos hecho juntos.*

*A Angélica por ser parte de mi vida otra madre que me ha sabido guiar en este camino.*

*A mis hermanas Tatiana y Paola porque siempre me han acompañado en todo momento de manera incondicional.*

*Y a toda mi familia, porque todos ustedes merecen este triunfo, ya que siempre me recordaban que todo era posible de conseguir con esfuerzo y perseverancia lo cual no permitió que desmayara en mis estudios*

## **AGRADECIMIENTO**

*A Dios, por darme la oportunidad de ser una mejor persona cada día.*

*A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en especial a la Escuela de Bioquímica y Farmacia por la formación brindada.*

*A, la Dra. Olga Lucero y a la Ing. Paola Argüello mi profunda gratitud por su dirección y arduo asesoramiento de la presente investigación y por compartir sus conocimientos en los momentos requeridos.*

*A la Dra. Ana Karina Carrascal, experta en microbiología quien impartió sus conocimientos de una manera acertada, dándonos apertura para realizar la pasantía.*

*Al Departamento de Control y Vigilancia Sanitaria de la Coordinación Zonal de Salud 3 con su muy acertada dirigencia de la Dra. Angelita Quisiguiña.*

*A, mis amigas Glenda y Belén por siempre estar ahí de manera incondicional dándome su apoyo juntas hemos compartido muchos momentos inolvidables. Y Alyp.net, Mayra y Rosita por su ayuda.*

*Y sobre todo a mi gran amor Jimmy, quien con sus palabras y cariño; es un pilar fundamental en mi vida ya que siempre estuvo ahí para apoyarme.*

# **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

## **FACULTAD DE CIENCIAS**

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

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “MONITOREO DE LA CALIDAD E INOCUIDAD DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE QUESO FRESCO ELABORADO ARTESANALMENTE EN LAS PARROQUIAS RURALES DEL CANTÓN RIOBAMBA”, de responsabilidad de la egresada Geovanna Alexandra Estrella Flores, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

**FIRMA**

**FECHA**

Dr. Silvio Álvarez

**DECANO FAC.CIENCIAS**

Dr. Iván Ramos

**DIRECTOR DE  
ESCUELA DE BIOQUÍMICA  
Y FARMACIA**

Dra. Olga Lucero

**DIRECTOR DE TESIS**

Ing. Paola Arguello

**MIEMBRO DE TRIBUNAL**

Lcdo. Carlos Rodríguez

**DIRECTOR CENTRO  
DE DOCUMENTACIÓN**

**NOTA DE TESIS ESCRITA**

Yo, **Geovanna Alexandra Estrella Flores**, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO, AL EQUIPO DEL PROYECTO “Factores de riesgo asociado a la contaminación de bacterias patógenas *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*, en la cadena de producción artesanal de quesos frescos elaborados en las parroquias rurales del Cantón Riobamba” DE LA FACULTAD DE CIENCIAS.

---

GEOVANNA ALEXANDRA ESTRELLA FLORES

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

|        |   |
|--------|---|
| ANOVA  | Analysis of Variance  |
| AOAC   | Asociación Oficial de Químicos Analistas                                  |
| APPCC  | Puntos Críticos de Control  |
| BPF    | Buenas Prácticas de Fabricación   |
| BPM    | Buenas Prácticas de Manufactura   |
| CAMP   | <i>Chirstie, Atkins, Munich-Petersen</i>                                  |
| °C     | Grados Celsius  |
| cm     | Centímetros   |
| EEB    | Encefalopatía Esponjiforme Bovina   |
| ESPOCH | Escuela Superior Politécnica de Chimborazo                                |
| ETAS   | Enfermedades Transmitidas por Alimentos                                   |
| FAO    | Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación |
| FDA    | Food and Drug Administration (Agencia de Alimentos y Medicamentos)        |
| g      | Gramos  |
| kg     | kilogramo   |
| ES     | Extracto Seco   |
| H      | Hora  |
| HACCP  | Hazard Analysis Critical Control Point                                    |
| IAE    | Infecciones Alimentarias estafilocócicas                                  |
| INEN   | Instituto Ecuatoriano de Normalización                                    |
| L      | Litro   |
| LLO    | Listeriolisina O  |
| mg     | Miligramos  |
| min    | Minuto  |
| ml     | Mililitro   |
| µL     | Microlitro  |
| Ms     | Masa seca   |
| N      | Normalidad  |
| NON    | Norma Técnica Nicaragüense  |
| NTE    | Norma Técnica Ecuatoriana   |
| OMS    | Organización Mundial de la Salud  |
| POE    | Procedimiento Operativo Estandarizado                                     |
| pH     | Potencial de Hidrógeno  |
| PVL    | Leucocidia de Pantone- Valentine  |
| %      | Porcentaje  |
| SE     | Enterotoxinas estafilocócicas   |
| TSST-1 | Toxina 1 del síndrome del shock tóxico                                    |
| t      | tiempo  |
| T°     | Temperatura   |
| UFC    | Unidades formadoras de colonias   |
| VRB    | Bilis rojo-violeta  |
| VRBG   | Bilis rojo-violeta con glucosa  |
| VU     | Vida útil   |

## ÍNDICE GENERAL

### Contenido

|   |        |
|---|--------|
| 1. MARCO TEÓRICO .....  | - 1 -  |
| 1.1 QUESO.....  | - 1 -  |
| 1.1.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS.....  | - 1 -  |
| 1.1.2. DEFINICIÓN .....   | - 3 -  |
| 1.1.3 CLASIFICACIÓN:.....   | - 4 -  |
| 1.1.4 FACTORES QUE INTERVIENEN EN LAS CARACTERÍSTICAS DEL QUESO<br>.....        | - 8 -  |
| 1.1.5 PRODUCCIÓN DE QUESO.....  | - 9 -  |
| 1.2 QUESO FRESCO.....   | - 10 - |
| 1.2.1. CLASIFICACIÓN DEL QUESO FRESCO .....                                     | - 11 - |
| 1.2.2 COMPOSICIÓN DEL QUESO FRESCO .....  | - 13 - |
| 1.2.2.1 Aporte Nutricional.....   | - 14 - |
| 1.2.2.2 Valor Calórico .....  | - 15 - |
| 1.2.3 ELABORACIÓN DEL QUESO FRESCO .....  | - 16 - |
| 1.2.3.1 Materias Primas para la Elaboración del Queso Fresco .....              | - 17 - |
| 1.2.3.2 Materiales y Equipos utilizados en la Elaboración de Queso Fresco ..... | - 18 - |
| 1.2.3.3 Proceso de Elaboración de Queso Fresco.....                             | - 19 - |
| 1.3 CONTROL DE CALIDAD EN LA ELABORACIÓN DEL QUESO .....                        | - 25 - |
| 1.3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA LECHE .....                                      | - 25 - |
| 1.3.1.1 Características organolépticas .....                                    | - 25 - |
| 1.4 CONTROL DE CALIDAD EN EL QUESO FRESCO .....                                 | - 28 - |
| 1.4.1 ANÁLISIS SENSORIAL DEL QUESO.....   | - 28 - |
| 1.4.1.1 APLICACIONES .....  | - 29 - |
| 1.4.1.2 ATRIBUTOS A EVALUAR EN EL QUESO .....                                   | - 30 - |

|  |        |
|--|--------|
| 1.4.1.3 Impresión global .....                           | - 37 - |
| 1.4.2.1 Control de Calidad Físico y Químico .....        | - 38 - |
| 1.4.2.2 Control Microbiológico .....                     | - 39 - |
| 1.5 CONSERVACIÓN DEL QUESO .....                         | - 39 - |
| 1.5.1 CARACTERÍSTICAS DEL QUESO EN SU CONSERVACIÓN ..... | - 40 - |
| 1.5.2 ALMACENAMIENTO DEL QUESO .....                     | - 41 - |
| 1.5.2.1 Peligros .....                                   | - 41 - |
| 1.5.2.2 Medidas preventivas: .....                       | - 42 - |
| 1.5.2.3 Límites críticos: .....                          | - 42 - |
| 1.5.2.4 Vigilancia: .....                                | - 43 - |
| 1.5.2.5 Medidas correctoras:.....                        | - 43 - |
| 1.5.2.6 Registros: .....                                 | - 43 - |
| 1.5.3 TRANSPORTE .....                                   | - 44 - |
| 1.5.3.1 Peligros: .....                                  | - 44 - |
| 1.5.3.2 Medidas preventivas: .....                       | - 44 - |
| 1.5.3.3 Límites críticos .....                           | - 45 - |
| 1.5.3.4 Vigilancia: .....                                | - 45 - |
| 1.5.3.5 Medidas correctoras:.....                        | - 46 - |
| 1.5.3.6 Registros: .....                                 | - 46 - |
| 1.5.4 ALMACENAMIENTO A TEMPERATURA AMBIENTE .....        | - 46 - |
| 1.5.4.1Cuál es el peligro .....                          | - 46 - |
| 1.5.4.2 Cómo podemos prevenirlo .....                    | - 47 - |
| 1.6 LA CADENA DE FRÍO .....                              | - 47 - |
| 1.6.1 LA IMPORTANCIA DE LA CADENA DEL FRÍO .....         | - 48 - |
| 1.6.2 TRANSPORTE .....                                   | - 50 - |
| 1.6.3 MANIPULACIÓN .....                                 | - 51 - |

|   |        |
|---|--------|
| 1.6.4 LA IMPORTANCIA DE LA LIMPIEZA EN LA MANIPULACIÓN DE LOS ALIMENTOS .....             | - 51 - |
| 1.7 ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (ETAS).....                                   | - 52 - |
| 1.7.1 MICROORGANISMOS TRANSMITIDOS POR EL QUESO.....                                      | - 56 - |
| 1.7.2 PELIGROS ORIGINADOS POR LOS ALIMENTOS.....  | - 56 - |
| 1.8 CALIDAD DE LOS ALIMENTOS .....  | - 58 - |
| 1.8.1 LA INOCUIDAD DE LOS ALIMENTOS .....   | - 59 - |
| 1.9 CODEX ALIMENTARIUS: NORMAS MUNDIALES.....   | - 61 - |
| 1.10 VIDA ÚTIL DE LOS ALIMENTOS .....   | - 62 - |
| 1.10.1. DESDE EL PUNTO DE VISTA DE LA INDUSTRIA ALIMENTARIA .....                         | - 64 - |
| 1.10.2 DESDE EL PUNTO DE VISTA SENSORIAL.....   | - 64 - |
| 1.10.3 INDICADORES DE VIDA ÚTIL.....  | - 65 - |
| 1.11 GÉNERO <i>listeria</i> .....   | - 67 - |
| 1.11.1 CARACTERÍSTICAS.....   | - 67 - |
| 1.11.2 <i>Listeria monocytogenes</i> .....  | - 68 - |
| 1.11.2.1 Generalidades: .....   | - 68 - |
| 1.11.2.2 Manifestaciones de listeriosis.....  | - 69 - |
| 1.11.2.3 Virulencia .....   | - 71 - |
| 1.11.2.4 Resistencia .....  | - 72 - |
| 1.11.2.5 Colonización. Patogenia de la infección.....                                     | - 73 - |
| 1.11.2.6 Listeriosis durante el embarazo .....  | - 73 - |
| 1.11.2.7 Listeriosis neonatal .....   | - 74 - |
| 1.11.2.8 Diagnóstico.....   | - 75 - |
| 1.11.2.9 Tratamiento de la listeriosis.....   | - 75 - |
| 1.11.2.10 Medios de cultivo para detección de <i>Listeria monocytogenes</i> en Alimentos- | 76     |
| -   |        |
| 1.12 <i>Staphylococcus aureus</i> .....   | - 77 - |

|  |         |
|--|---------|
| 1.12.1 CARACTERÍSTICAS.....  | - 78 -  |
| 1.12.2 HABITAT.....  | - 78 -  |
| 1.12.3 MORFOLOGÍA .....  | - 79 -  |
| 1.12.4 VIRULENCIA.....   | - 80 -  |
| 1.12.5 MANIPULADORES DE ALIMENTOS Y <i>Staphylococcus aureus</i> .....     | - 84 -  |
| 1.12.6 PRESENCIA DE <i>Staphylococcus aureus</i> EN ANIMALES .....         | - 84 -  |
| 1.12.7.1 Agar Baird Parker.....  | - 85 -  |
| 1.13. ENTEROBACTERIAS .....  | - 86 -  |
| 1.13.1 MORFOLOGÍA .....  | - 87 -  |
| 1.13.2 ENTEROBACTERIAS Y LOS ALIMENTOS.....                                | - 88 -  |
| 1.13.3 AGAR VRBG.....  | - 89 -  |
| 1.14. BACTERIAS COLIFORMES.....  | - 90 -  |
| 1.14.1 CARACTERES BIOQUÍMICOS .....  | - 92 -  |
| 1.14.2 HÁBITAT.....  | - 92 -  |
| 1.14.3 COLIFORMES COMO INDICADORES.....                                    | - 92 -  |
| 1.14.4 BACTERIAS QUE INTEGRAN EL GRUPO.....                                | - 93 -  |
| 1.14.5 AGAR VRB.....   | - 93 -  |
| 1.15 BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA (BPM).....                            | - 95 -  |
| 1.15.1 REQUISITOS PARA CUMPLIR CON LAS BPM.....                            | - 97 -  |
| 1.15.1.1 Instalaciones .....   | - 97 -  |
| 1.15.1.2 Equipos y utensilios.....   | - 99 -  |
| 1.15.1.3 Requisitos Higiénicos de Fabricación - Personal .....             | - 100 - |
| 1.15.1.4 Materias Primas e Insumos.....                                    | - 101 - |
| 1.15.1.5 Operaciones de Producción .....                                   | - 102 - |
| 1.15.1.6 Envasado, etiquetado y empaquetado.....                           | - 103 - |
| 1.15.1.7 Almacenamiento, Distribución, Transporte y Comercialización ..... | - 104 - |

|  |       |
|--|-------|
| 1.15.1.8 Garantía de Calidad - Aseguramiento y Control de calidad.....   | 104 - |
| 2. PARTE EXPERIMENTAL.....   | 108 - |
| 2.1 LUGAR DE INVESTIGACIÓN.....  | 108 - |
| 2.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.....   | 108 - |
| 2.2.1 MATERIA PRIMA.....   | 108 - |
| 2.2.2 EQUIPOS.....   | 109 - |
| 2.2.3 MATERIALES.....  | 109 - |
| 2.2.4 REACTIVOS.....   | 110 - |
| 2.3 MÉTODOS.....   | 111 - |
| 2.3.1 REALIZACIÓN DE ENCUESTAS.....  | 111 - |
| 2.3.2 TOMA DE MUESTRAS.....  | 111 - |
| 2.3.3 ANÁLISIS SENSORIAL, FÍSICO, QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO.....  | 112 - |
| 2.3.4 ANÁLISIS SENSORIAL DE QUESO FRESCO.....  | 112 - |
| 2.3.5 ANÁLISIS FÍSICO DE MUESTRAS DE QUESO FRESCO.....   | 114 - |
| 2.3.5.1 Determinación de la concentración del ión Hidrógeno (pH) NTE INEN 389..  | 114 - |
| 2.3.6 ANÁLISIS QUÍMICO DE MUESTRAS DE QUESO FRESCO.....  | 115 - |
| 2.3.6.1 Determinación del contenido de Humedad (Método de desecación en estufa de<br>aire caliente) NTE INEN 63.....                           | 115 - |
| 2.3.6.2 Determinación de la Acidez NTE INEN 13.....  | 116 - |
| 2.3.6 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE MUESTRAS.....   | 118 - |
| 2.3.6.1 Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> Método Recuento en Placa de Siembra<br>por Extensión en Superficie. NTE 1529: 14-98..... | 118 - |
| 2.3.6.2 Determinación de Enterobacterias Totales por Siembra en Placa.....   | 120 - |
| 2.3.6.3 Determinación de Coliformes Método Recuento Directo en Placa de Agar..   | 122 - |
| 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....   | 124 - |
| 3.1 ENCUESTAS SOBRE CONSUMO DE QUESO FRESCO ARTESANAL Y<br>FORMAS DE ALMACENAMIENTO.....   | 124 - |

|   |                |
|---|----------------|
| 3.2 MONITOREO DE LA CALIDAD E INOCUIDAD DEL QUESO FRESCO<br>ALMACENADO EN DOS AMBIENTES ..... | - 125 -        |
| 3.3 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE MUESTRAS .....   | - 130 -        |
| 4. CONCLUSIONES.....  | - 137 -        |
| 5. RECOMENDACIONES .....  | - 138 -        |
| 6. RESUMEN .....  | - 139 -        |
| SUMARY .....  | - 140 -        |
| <b>7. BIBLIOGRAFÍA .....</b>  | <b>- 141 -</b> |
| 8. ANEXOS.....  | - 160 -        |

## ÍNDICE DE TABLAS

|              |  |    |
|--------------|--|----|
| Tabla No. 1  | COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL QUESO FRESCO.....  | 14 |
| Tabla No. 2  | REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS DE LA LECHE CRUDA.....                                      | 27 |
| Tabla No. 3  | REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS DE LA LECHE PASTEURIZADA.....                               | 28 |
| Tabla No. 4  | REQUISITOS PARA QUESOS FRESCOS NO MADURADOS ESTABLECIDOS EN LA NTE INEN 1528:2012..... | 38 |
| Tabla No. 5  | REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS PARA QUESOS FRESCOS NO MADURADOS.....                       | 39 |
| Tabla No. 6  | PRINCIPALES FACTORES DE VIRULENCIA DE <i>S. aureus</i> .....                           | 80 |
| Tabla No. 7  | COMPOSICIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO BAIRD PARKER PARA DETECCIÓN DE <i>S.aureus</i> .....  | 86 |
| Tabla No. 8  | TIPOS DE ENTEROBACTERIAS CON IMPORTANCIA CLÍNICA.....                                  | 87 |
| Tabla No. 9  | COMPOSICIÓN DEL AGAR VRBG EN g/L.....  | 90 |
| Tabla No. 10 | COMPOSICIÓN DEL AGAR VRB.....  | 94 |

## ÍNDICE DE CUADROS

|              |   |     |
|--------------|---|-----|
| Cuadro No. 1 | CRONOGRAMA DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS.....  | 112 |
| Cuadro No. 2 | FORMA DE ALMACENAMIENTO Y TIEMPO DE DURACIÓN DEL QUESO.....   | 124 |
| Cuadro No. 3 | RESULTADOS DEL MONITOREO DE LA CALIDAD E INOCUIDAD DEL QUESO FRESCO ALMACENADO EN CONDICIONES.....  | 126 |
| Cuadro No. 4 | RESULTADOS DEL MONITOREO DE LA CALIDAD E INOCUIDAD DEL QUESO FRESCO ALMACENADO EN REFRIGERACIÓN.....  | 127 |
| Cuadro No. 5 | RESULTADO DEL NÚMERO DE BACTERIAS COLIFORMES ENCONTRADAS EN QUESOS FRESCOS ELABORADOS EN LAS PARROQUIAS RURALES DEL CANTÓN RIOBAMBA EN LOG UFC/g.....         | 130 |
| Cuadro No. 6 | RESULTADO DEL NÚMERO DE ENTEROBACTERIAS ENCONTRADAS EN QUESOS FRESCOS ELABORADOS EN LAS PARROQUIAS RURALES DEL CANTÓN RIOBAMBA EN LOG UFC/g .....             | 131 |
| Cuadro No. 7 | RESULTADO DEL NUMERO DE <i>Saphylococcus aureus</i> ENCONTRADOS EN QUESOS FRESCOS ELABORADOS EN LAS PARROQUIAS RURALES DEL CANTÓN RIOBAMBA EN LOG UFC/g ..... | 134 |

## INDICE DE FOTOGRAFIAS

|                   |  |    |
|-------------------|--|----|
| Fotografía No. 1  | QUESO.....   | 1  |
| Fotografía No. 2  | QUESO FRESCO.....  | 10 |
| Fotografía No. 3  | LISTERIA .....   | 67 |
| Fotografía No. 4  | <i>Listeria monocytogenes</i> EN AGAR PALCAM.....                | 68 |
| Fotografía No. 5  | AGAR CROMOGÉNICO PARA DETECCIÓN DE <i>L. monocytogenes</i> ..... | 77 |
| Fotografía No. 6  | <i>Staphylococcus aureus</i> .....                               | 77 |
| Fotografía No. 7  | CRECIMIENTO DE <i>S. aureus</i> EN AGAR BAIRD PARKER.....        | 85 |
| Fotografía No. 8  | ENTEROBACTERIA.....  | 86 |
| Fotografía No. 9  | CRECIMIENTO DE ENTEROBACTERIAS EN AGAR VRBG.....                 | 89 |
| Fotografía No. 10 | COLIFORMES.....  | 90 |
| Fotografía No. 11 | CRECIMIENTO DE COLIFORMES EN AGAR VRB.....                       | 93 |

## ÍNDICE DE GRAFICOS

|               |   |    |
|---------------|---|----|
| Grafico No. 1 | PROCESO DE ELABORACIÓN DE QUESO FRESCO..... | 24 |
|---------------|---|----|

## **INDICE DE FIGURAS**

|              |  |    |
|--------------|--|----|
| Figura No. 1 | INDICADORES DE VIDA ÚTIL DE UN ALIMENTO..... | 65 |
|--------------|--|----|

## ÍNDICE DE ANEXOS

|             |  |     |
|-------------|--|-----|
| Anexo No. 1 | QUESERAS A MUESTREAR.....  | 160 |
| Anexo No. 2 | MODELO DE LA ENCUESTA EN LOS MERCADOS DE LA CIUDAD DE RIOBAMBA. ENERO 2013.....                                  | 161 |
| Anexo No. 3 | FOTOGRAFÍAS DE LA REALIZACIÓN DE ENCUESTAS EN LOS MERCADOS DE LA CIUDAD. RIOBAMBA. ENERO 2013.....               | 162 |
| Anexo No. 4 | FOTOGRAFÍAS DE LA VENTA DE QUESOS FRESCOS EN LOS DISTINTOS MERCADOS DE LA CIUDAD. RIOBAMBA. ENERO 2013.....      | 163 |
| Anexo No. 5 | FOTOGRAFÍAS DEL SEGUIMIENTO DE LA CADENA DE PRODUCCION HASTA SU COMERCIALIZACION. MARZO 2013.....                | 165 |
| Anexo No. 6 | FOTOGRAFÍAS DE LOS QUESOS A MUESTREAR. RIOBAMBA. MARZO 2013.....   | 166 |
| Anexo No. 7 | FOTOGRAFÍAS DE LA PREPARACION DE LA MUESTRA. RIOBAMBA. MARZO 2013.....   | 167 |
| Anexo No. 8 | FOTOGRAFÍAS DEL ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DEL QUESO FRESCO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. MARZO 2013..... | 169 |
| Anexo No. 9 | FOTOGRAFÍAS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO. RIOBAMBA. MARZO 2013.....   | 171 |

## INTRODUCCIÓN

En el Ecuador el consumo de queso fresco es parte de su cultura alimenticia, en efecto un 84.3% de los hogares urbanos de las principales ciudades consumen queso, esto representa algo más de 1 millón de hogares. Según las investigaciones de Pulso Ecuador (2005), el 92.8% de los hogares compran regularmente queso fresco.

Los quesos son una forma de conservación de los componentes insolubles de la leche: la caseína y la materia grasa; se obtienen por la coagulación de la leche seguida del desuerado, en el curso del cual el lactosuero se separa de la cuajada. El lactosuero contiene la mayor parte del agua y de los componentes solubles de la leche, quedando una pequeña parte aprisionada en la cuajada. El queso es un alimento universal, que se produce en casi todas las regiones del globo a partir de leche de diversas especies de mamíferos. Los quesos se encuentran entre los mejores alimentos del hombre, no solamente en razón de su acusado valor nutritivo (materias nitrogenadas bajo diferentes formas, materias grasas, calcio, fósforo, etc.), sino también en razón de las cualidades organolépticas extremadamente variadas que poseen. Las pequeñas diferencias en la composición, independientemente de las diferencias existentes entre leches de especies o de razas diferentes, tienen repercusiones sobre las propiedades del queso.

En América latina el consumo de queso fresco es alto por hábitos culturales, el consumo per cápita en el Ecuador en el año 2011, se estima en 1,72 Kg de queso mensual, sin embargo, la mayor producción es de manera artesanal sin la calificación técnica ni las condiciones higiénico sanitarias y en muchos casos se procesa a partir de leche cruda, lo que incrementa el riesgo de contaminación. Los consumidores se abastecen de queso fresco en tiendas de barrio, plazas de mercado y supermercados, en los dos primero el manejo del producto es deficiente lo cual contribuye a su contaminación con patógenos, aunque esto en general puede ocurrir en varios estadios de la cadena producción-

consumo, dando origen a enfermedades causadas por el consumo de alimentos contaminados que son una fuente importante de morbi-mortalidad a nivel mundial, es así que se han descrito alrededor de 250 agentes causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), entre bacterias, virus, hongos, parásitos, priones y toxinas. Los microorganismos contaminan los alimentos en pequeñas cantidades, pero cuando encuentran en ellos las condiciones adecuadas para sobrevivir y multiplicarse pueden alcanzar los niveles necesarios para ser infectantes o producir la suficiente toxina para causar enfermedad, como es el caso de *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* en la producción de queso fresco; debido a los cuales se han realizado varios estudios ya que en Latinoamérica entre el año 1993 y 2002 se presentaron 719 brotes por infección estafilocócica que afectaron a 27693 personas de las cuales 3 fallecieron.

En el Ecuador no existen estudios de calidad e inocuidad sobre estos alimentos, pero a nivel internacional si, entre los que se puede citar: “Evaluación y mejoramiento de la calidad microbiológica de queso fresco a base de leche no pasteurizada, elaborado artesanalmente y comercializado en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala” de Barrios, H. (2006) y el “Diagnostico de las condiciones microbiológicas y fisicoquímicas del Queso Costeño producido en Municipio de Since Sucre (Colombia) por Chávez, A., Romero, A. (2006).

En este contexto esta investigación se planteó los siguientes objetivos: Monitorear la calidad e inocuidad durante el almacenamiento de queso fresco elaborado artesanalmente en las parroquias rurales del cantón Riobamba (identificadas en la investigación de Castillo,G. 2013), establecer las formas de almacenamiento de quesos frescos producidos artesanalmente mediante una encuesta a los consumidores en los mercados populares de la ciudad de Riobamba y realizar el análisis sensorial, físico, químico y microbiológico de los quesos frescos en su punto de comercialización.

Para lo cual primero se realizo una encuesta para establecer el consumo, marcas y formas de almacenamiento de queso fresco, posteriormente se efectuó el seguimiento de la cadena de producción desde su elaboración hasta la comercialización y, finalmente se analizo su comportamiento en los dos ambientes.

De las encuesta se estableció que el 90% de la población consume queso fresco elaborado artesanalmente y los conserva en dos formas en condiciones ambientales y refrigeración. Los resultados del análisis bromatológico están fuera de los límites normativos, por lo que su calidad e inocuidad durante el almacenamiento en los dos ambientes es deficiente tornándose por lo tanto en no aptos para el consumo humano; esto se debe a razones multifactoriales como falta de estandarización en el esquema tecnológico, manejo inadecuado en el transporte y condiciones higiénico-sanitarias deficientes en su producción y comercialización; poniendo en riesgo la salud de los consumidores, siendo susceptibles de contraer enfermedades transmitidas por alimentos y convirtiéndose así en un problema de salud pública con implicaciones en lo social y económico

## CAPÍTULO I

### 1. MARCO TEÓRICO

#### 1.1 QUESO



FOTOGRAFÍA No. 1 QUESO

##### 1.1.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS

De acuerdo a Sanz, los orígenes de la elaboración del queso están en discusión, no se pueden datar con exactitud, aunque se estima que se encuentran entre el año 8000 a. C. (cuando se domestica la oveja) y el 3000 a. C. Según la mitología griega, fueron los Dioses del Olimpo quienes enseñaron a los humanos a elaborar el queso, algo más verosímil es la leyenda árabe en la que nos dice que un pastor nómada se quedó sin recipiente para transportar la leche, entonces se le ocurrió matar un cabrito y utilizar su estómago como odre. A consecuencia del calor durante el camino de vuelta, la leche se tornó sólida y de esta manera aprendieron a elaborar queso. (57)

Así se introdujo en Asia Central y en Oriente Medio, su fabricación se extendió a Europa y se había convertido en una empresa sofisticada ya en época romana. Cuando la influencia de Roma decayó, surgieron técnicas de elaboración locales diferentes. Las pruebas arqueológicas más antiguas de la manufactura del queso se han encontrado en murales de tumbas del Antiguo Egipto. Estos primeros quesos probablemente tendrían un fuerte sabor y estarían intensamente salados, con una textura similar a los quesos feta o requesón. (94)

Desde Oriente Medio, las habilidades en la manufactura del queso (Fotografía No 1) se introdujeron en Europa, donde climas más fríos hacían necesario menos cantidades de sal para la conserva. Con la reducción de sales y ácidos, el queso se convirtió en un ambiente propicio para bacterias y mohos, encargados de darle su sabor característico. (96)

En los tiempos de la Antigua Roma era un alimento que se consumía a diario, y su proceso de fabricación no distaba demasiado a como se hace actualmente fuera del ámbito industrial. En el año 65 d. C. se detalla la fabricación de quesos con procesos que comprenden la coagulación con fermentos, presurización del cuajo, salado y curado. (94)

Roma extendió sus técnicas en la manufactura del queso por gran parte de Europa, introduciéndolas en regiones sin conocimiento de ellas. Con el declive de Roma y el colapso en el comercio de grandes distancias, la diversidad del queso en Europa aumentó sensiblemente, con distintas regiones desarrollando sus propias tradiciones distintivas. (94)

Ligado a la cultura moderna europea, el queso era prácticamente desconocido en las culturas orientales, no había sido inventado en la América precolombina, y tenía un uso bastante limitado en África, siendo popular y estando desarrollado sólo en Europa y en las áreas fuertemente influenciadas por su cultura. Pero con la extensión, primero del imperialismo europeo, y después de la cultura euroamericana, poco a poco el queso se ha dado a conocer y se ha hecho popular en todo el mundo. (96)

Los años 1860 mostraron las posibilidades de la producción de queso, y sobre el cambio de siglo la ciencia comenzó a producir microbios puros. Antes de esto, las bacterias se obtenían del medio ambiente o reciclando otras ya usadas. El uso de microbios puros significó una producción mucho más estandarizada. Se empezaron a producir lo que se denomina queso procesado.

La producción industrial de queso adelantó a la tradicional en la Segunda Guerra Mundial, las fábricas se convirtieron en la fuente de la mayoría de quesos en América y Europa, desde las antiguas civilizaciones, el queso se ha almacenado para épocas de escasez y se le considera un buen alimento para los viajes, siendo apreciado por su facilidad de transporte, buena conservación y buen contenido en grasa, proteínas, calcio y fósforo. (57)

#### 1.1.2. DEFINICIÓN

De acuerdo a la FAO/OMS (2002): “es el productos fresco o madurado obtenido por la coagulación y separación de suero de la leche, nata, leche parcialmente desnatada, mazada o por una mezcla de estos productos”. (21)

Según Keating (2002), define al queso como el producto resultante de la concentración de una parte de la materia seca de la leche, por medio de una coagulación.

Los métodos de fabricación y de control de la fermentación del queso fueron descubiertos y desarrollados empíricamente. (25)

Según Alais (1985), los quesos son una forma de conservación de los dos componentes insolubles de la leche: caseína y la materia grasa; se obtienen por la coagulación de la leche seguida del desuerado, en el curso del cual el lactosuero se separa de la cuajada. La definición precisa que “el producto puede o no estar fermentado”, de hecho experimenta por lo menos una fermentación láctica. (4)

De acuerdo a Chamorro y Losada (2002), el queso es el producto fresco o maduro, sólido o semisólido, que resulta de la coagulación de la leche natural (entera), de la desnatada total o parcialmente, de la nata, del suero de mantequilla, o de una mezcla de algunos de todos estos productos, por acción del cuajo u otros coagulantes apropiados, con o sin hidrólisis previa de la lactosa, seguida del desuerado del coágulo obtenido. Este coágulo, llamado cuajad, está esencialmente constituido de un gel de caseína que retiene la materia grasa y una parte más o menos importante de la parte acuosa de la leche, el lactosuero y en el que la relación entre la caseína y las proteínas del suero sea igual o superior a la de la leche. La cuajada puede ser consumida como tal bajo la categoría de queso fresco o sufrir una maduración que le llevará a una serie de transformaciones especialmente enzimáticas que le hacen adquirir caracteres organolépticos específicos, constituyendo el queso maduro. (12)

De acuerdo a la composición: “es el producto, fermentado o no, constituido esencialmente por la caseína de la leche, en forma de gel más o menos deshidratado que retiene casi toda la materia grasa, si se trata de queso graso, un poco de lactosa en forma de ácido láctico y una fracción variable de sustancias minerales” .(42)

### 1.1.3 CLASIFICACIÓN:

La norma ecuatoriana NTE-INEN 0062:74 se establece una clasificación de acuerdo a su dureza y contenido graso así:

De acuerdo con su dureza los quesos, se clasifican en:

- ❖ Duros: Aquellos en los que el contenido de humedad sin materia grasa es igual o menor de 55%.
- ❖ Semiduros: Aquellos en los que el contenido de humedad sin materia grasa es mayor a 55% y menor de 65%
- ❖ Blandos: Aquellos en los que el contenido de humedad sin materia grasa es igual o mayor a 65%.

De acuerdo con su contenido de materia grasa, se clasifican en quesos:

- ❖ Ricos en grasa: Aquellos en los que el contenido de grasa en el extracto seco es igual o mayor de 60%.
- ❖ Extragrasos: Aquellos en los que el contenido de grasa en el extracto seco es menor de 60% y mayor o igual que 45%.
- ❖ Semigrasos: Aquellos en los que el contenido de grasa en el extracto seco es menor de 45% y mayor o igual que 25%
- ❖ Pobres en grasa: Aquellos en los que el contenido de grasa en el extracto seco es menor de 25% y mayor de 10%
- ❖ Desnatados: Aquellos en los que el contenido de grasa en el extracto seco es igual o menor de 10%

De acuerdo con sus características de maduración se clasifican en:

- ❖ Maduros: Aquellos que no están listos para el consumo poco después de su fabricación, y que deben mantenerse durante un tiempo determinado en condiciones tales que se originen los necesarios cambios característicos físicos y químicos por todo el interior y/o sobre su superficie.
- ❖ Sin madurar: Aquellos que están listos para el consumo poco después de su fabricación y que no requieren de cambios físico o químicos adicionales. (64)

González (2002), a los quesos los clasifica en base a los siguientes criterios:

- De acuerdo al contenido de humedad: se clasifican en quesos duros, semiduros y blandos
- De acuerdo al método de coagulación de la caseína: se clasifican en quesos al cuajo (enzimáticos), quesos de coagulación láctica (ácido láctico), queso de coagulación de ambos métodos.
- De acuerdo al microorganismo utilizado en la maduración y la textura del queso: se clasifican en quesos de ojos redondos, granulares y quesos de textura cerrada.(21)

Según Quesería Vola (2013), hace una sola clasificación del queso, no es una tarea fácil, sin embargo, recoge las clasificaciones más simples y utilizadas:

### **Según su forma de elaboración**

- **Industrial:** El producto se elabora en industrias queseras, con instalaciones más o menos grandes y que suponen cierto capital. La leche se compra a los ganaderos que pueden estar cerca o lejos de la fábrica y el queso que se elabora puede fabricarse siguiendo los procesos tradicionales o no.
- **Artesano:** Al frente de su elaboración hay muy pocas personas y se caracteriza porque en su proceso de elaboración se mantienen los procedimientos tradicionales de la zona y se obtiene un producto peculiar. Cada artesano utiliza pequeñas cantidades de leche, la cual puede ser comprada o bien propia, en cuyo caso también se llama “queso de granja”.

### **Según la maduración**

- **Fresco:** Es el producto que puede consumirse una vez que ha terminado el proceso de fabricación.
- **Blanco pasteurizado:** En este caso se pasteuriza la cuajada.
- **Curado o maduro:** Es aquel que después de la fabricación se mantiene durante cierto tiempo en unas condiciones determinadas de humedad y temperatura hasta su consumo. (88)

Según Chamorro y Losada (2002), la variabilidad de los quesos es muy elevada, ya que no solamente puede ser distinta de la materia prima de la que se parte sino que se pueden realizar varias mezclas entre ellas, también existen diferentes tecnologías aplicadas y el empleo de microorganismos o cultivos iniciadores, la temperatura o la intensidad de alguna operación del proceso. Es así que lo clasifica por:

Según el tipo de leche

- Queso de vaca
- Queso de cabra
- Queso de oveja
- Queso de la mezcla entre ellas

Según el tipo de coagulación

- Coagulación ácida
- Coagulación mixta: ácida-enzimática
- Coagulación enzimática

Según su textura

- Quesos de ojos redondeados
- Quesos de textura granular
- Quesos de textura cerrada (12)

La gran variedad de quesos se explica por dos hechos esenciales:

1. La naturaleza de la leche. Pequeñas diferencias en la composición, independientemente de las diferencias existentes entre leches de especies o de razas diferentes, tienen repercusiones en las propiedades del queso.
2. Las formas de preparación, que presentan una diversidad cuyos límites son difíciles de fijar. Antes se determinaban por las condiciones climatológicas, geográficas, económicas e históricas. El progreso técnico y el desarrollo de los medios de comunicación han modificado estas condiciones; sin embargo, algunos tipos de quesos permanecen aún hoy día ligados a una región y no se fabrican, o se fabrican en escasa proporción, en otros lugares. (4)

Las formas de preparación diversifican los quesos por la influencia que tienen sobre la estructura y las fermentaciones:

- a) Los quesos tienen una "armazón" de paracaseinato de calcio; su estructura depende de la forma de coagulación, del desarrollo de la acidez, de la cantidad de agua retenida, de la proporción de la materia grasa y del grado de proteolisis, que le hace perder su rigidez.
- b) Las posibilidades de fermentación de la caseína y de la materia grasa son diversas; su realización depende de un conjunto de condiciones fisicoquímicas, y de las enzimas presentes. El aspecto de los quesos y su sabor se deben principalmente a la actividad de los microorganismos y a las fermentaciones que experimentan la caseína, la materia grasa y la lactosa que queda en la cuajada. (4)

#### 1.1.4 FACTORES QUE INTERVIENEN EN LAS CARACTERÍSTICAS DEL QUESO

Las características de cada tipo de queso no están determinadas por un pequeño número de factores, como en el caso de la mantequilla. Por el contrario, son el resultado de la influencia de numerosos factores interdependientes, de los cuales los principales, aparte de la composición de la leche son:

- Factores microbiológicos: composición de la microflora considerada bajo un aspecto dinámico, microfloras asociadas y microfloras sucesivas.
- Factores bioquímicos: concentración y propiedades de las enzimas coagulantes, principalmente, del cuajo, de las bacterias, de las levaduras y de los mohos.
- Factores físicos y fisicoquímicos: temperatura, pH, Eh y efectos osmóticos.
- Factores químicos: proporción de calcio retenido en la cuajada, contenido en agua y sal, composición de la atmósfera (humedad, gas carbónico, amoníaco).
- Factores mecánicos: corte, agitación, trituración y frotamiento, que reducen o acentúan los efectos de los factores precedentes.

Se trata, por lo tanto, de un sistema muy complejo (si se excluyen ciertos tipos de quesos simplificados). El hombre de ciencia no conoce este sistema más que imperfectamente y este hecho retarda las tentativas de racionalización y de automatismos. Los intentos para producir queso en continuo con máquinas automáticas, desde la leche al producto

terminado, no han logrado un éxito general. En el momento actual sólo se pueden producir de forma continua algunas "pastas frescas", que no pueden considerarse como quesos completos. (4)

#### 1.1.5 PRODUCCIÓN DE QUESO

Según Alais (1985), los quesos también son una forma de conservación de los dos componentes insolubles de la leche: la caseína y la materia grasa; se obtienen por coagulación de la leche seguida del desuerado, en el curso del cual el lactosuero se separa de la cuajada. El lactosuero contiene la mayor parte del agua y de los componentes solubles de la leche, quedando una pequeña parte aprisionada en la cuajada. La definición legal del queso precisa que "el producto puede estar o no fermentado"; de hecho experimenta por lo menos una fermentación láctica. El queso desnatado se obtiene a partir de la leche desnatada. (4)

El queso es un alimento universal, que se produce en casi todas las regiones del globo a partir de leche de diversas especies de mamíferos. Los quesos se encuentran entre los mejores alimentos del hombre, no solamente en razón de su acusado valor nutritivo (materias nitrogenadas bajo diferentes formas, materias grasas, calcio, fósforo, etc.), sino también por las cualidades organolépticas extremadamente variadas que poseen, ya que la variedad es fuente de placer. (4)

Puede decirse, sin exagerar, que el desarrollo de la quesería es una "prueba de civilización". Mientras el consumo de leche líquida y de mantequilla varía muy poco en Europa, el de queso aumenta sin cesar. En veinte años, en Francia (1960-1980), el consumo se ha incrementado en más del doble (de 9 a 19 kg/cabeza). En el conjunto de la C.E.E., el aumento del consumo ha sido del 88%. Salvo en Asia (cuya producción es muy baja: 0,1% del total mundial), en el resto de las grandes regiones del mundo la producción quesera se encuentra en pleno crecimiento. (4)

## 1.2 QUESO FRESCO



**FOTOGRAFÍA No. 2 QUESO FRESCO**

Según González (2010), es el producto obtenido por coagulación de la leche pasteurizada, integral o parcialmente descremada, constituido esencialmente por caseína de la leche en forma de gel más o menos deshidratado, que retiene un porcentaje % de la materia de grasa, según el caso, un poco de lactosa en forma de ácido láctico y una fracción variable de sustancias minerales. (20)

Según un artículo de Mundo Quesos se define a Quesos Frescos como quesos de fermentación láctica, con adición en algunos casos de muy poco cuajo. El desuerado es lento y tan pronto termina se envasa. Son quesos con alta humedad en la pasta, a veces salados o incrementados con nata. (112)

La norma ecuatoriana NTE-INEN 1528: 2012 establece la definición de queso fresco como “Es el 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. También se designa como queso blanco (Fotografía No. 2). (65)

Inda (2000), establece que la estructura final de un queso blanco pasteurizado, consiste básicamente de una fase discreta o discontinua de materia grasa dentro de una matriz continua de proteína altamente hidratada. Puesto que generalmente no se usan fermentos lácticos para fabricar este tipo de queso, su pH es más bien alto, 6.2 y 6.5, ligeramente

inferior al de la leche. Además, se trata generalmente de quesos de muy alto contenido de humedad 50-56% y por estas dos razones son productos altamente perecederos cuya fabricación apropiada requiere estrictamente de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) e idealmente de HACCP. En varios países, estos quesos tienen un alto contenido de sal, entre 3 y 5 %, pero esto no es suficiente para aumentar significativamente su intrínseca corta vida anaquel. (23)

### 1.2.1. CLASIFICACIÓN DEL QUESO FRESCO

En la NTE INEN 1528:2012, los quesos frescos de acuerdo a su composición y características físicas se clasifican en:

#### **Según el contenido de humedad**

- a) Duro
- b) Semiduro
- c) Semiblando
- d) Blando

#### **Según el contenido de grasa láctea**

- a) Rico en grasa
- b) Entero ó Graso
- c) Semidescremado o bajo en grasa
- d) Descremado o magro (65)

En la norma Técnica Nicaragüense 03 022-99 el producto lo clasifican de acuerdo a su composición y características físicas en los siguientes tipos:

Según el contenido de humedad

- Duro
- Semiduro
- Semiblando
- Blando

Según el contenido de grasa láctea

- Rico en grasa
- Graso
- Semigraso.
- Magro

Según características del proceso

- Fresco: Para consumir hasta 10 días después de su fabricación.
- Semiduro: Para consumir después de reposar entre 10 y 30 días después de su fabricación.
- Madurado: Para consumir después de el tiempo asignado según el tipo de queso.
- Madurado por mohos.
- Fundido

El queso se designa por su nombre, seguido de la indicación del contenido de humedad, contenido de grasa láctea y características del proceso. La prueba de fosfatasa será negativa para el queso fabricado con leche pasterizada. (72)

## 1.2.2 COMPOSICIÓN DEL QUESO FRESCO

Según Aminot (1991), el queso es el resultado de la concentración selectiva de la leche. El agua se elimina en una proporción distinta en cada variedad, arrastrando con ella una parte de los elementos solubles y de las proteínas no coaguladas que contienen leche. El agua que queda retenida en el queso desempeña un papel muy importante: es esencial para el desarrollo de los microorganismos y determina la velocidad de las fermentaciones y de la maduración, el tiempo de conservación, la textura del queso y el rendimiento del proceso de elaboración. La materia grasa influye en la textura, el sabor, el rendimiento y en el color. La lactosa es sustrato para la formación de ácido y por lo tanto, interviene en la coagulación de la leche, el desuerado y la textura de la cuajada, y también en el crecimiento de los microorganismos. La caseína origina diversos compuestos aromáticos. Las proteínas del suero que quedan incluidas en la cuajada contribuyen al valor nutritivo del queso y tiene mucha importancia en el proceso de maduración. Los minerales participan en la coagulación de la leche e influyen sobre el desuerado y la textura del queso. (1)

Desde el punto de vista económico, es fundamental obtener un buen rendimiento en la fabricación de queso y para ello es imprescindible controlar todo el proceso y conocer los principales datos necesarios para su cálculo, que son: la cantidad de leche recogida y su contenido en materia grasa y caseína; el peso del queso cuando se pone en los moldes, al final del escurrido, a la salida de las prensas y en el momento de la expedición; el contenido en MG del lactosuero y también la humedad y materia grasa del queso. (1)

Según Chamorro y Losada (2002), la composición del queso generalmente se expresa referida al porcentaje de su extracto seco (ES %) y normalmente se clasifica por este valor. Otra característica que también le define es el contenido de materia grasa por 100 de ES (grasa sobre materia seca) o lo que es igual (G/ES %). En la composición va a influir el tipo de leche empleada (vaca, oveja, cabra o sus mezclas) y la tecnología seguida (tipo de coagulación, intensidad del desuerado) (12)

Su composición química se puede observar en la Tabla No.1

**TABLA No. 1 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL QUESO FRESCO**

| <b>Componentes</b> | <b>Porcentaje</b> |
|--------------------|-------------------|
| AGUA               | 60,00%            |
| GRASA              | 19,00%            |
| PROTEÍNA           | 17,00%            |
| CARBOHIDRATOS      | 2,00%             |
| SALES MINERALES    | 2,00%             |

Fuente: <http://www.slideshare.net/dicoello/sistemas-de-calidad-en-queso-fresco>

### **1.2.2.1 Aporte Nutricional**

El queso es un alimento muy completo por sus proteínas, lípidos, minerales y vitaminas, pero se debe tener en cuenta su riqueza calórica según la variedad. (108)

La importancia nutricional del queso se debe a que contiene proteínas de alto valor biológico. El contenido de proteínas en el queso está entre 20 a 35% y varía en sentido inverso al contenido de grasa. Normalmente, unos 100 gramos de queso fresco aportarán del 30 al 40% de los requerimientos diarios de un adulto. Las proteínas del suero se pierden durante la manufactura del queso. El contenido de grasa se relaciona en parte y directamente con el valor calórico. Debido a que la grasa se expresa en términos de materia seca, una alta humedad del queso significa menos contenido en grasa, este componente contribuye significativamente al sabor (112).

- **Proteínas.**

Los quesos contienen del 10 al 30 % de proteína, dependiendo del método de manufactura (quesos duros o blandos), dando al queso textura y sabor. La digestibilidad de la proteína del queso es de 95 %, muy parecida a la del huevo o algunos productos cárnicos.

La cantidad de aminoácidos esenciales en el queso, dan a este producto un alto valor biológico, siendo particularmente importante en el desarrollo de los niños.

En ciertos tipos de quesos, los aminoácidos limitantes son metionina y cistina. (58)

- **Grasas**

Durante la maduración la grasa juega un papel importante en el aroma del queso. La grasa de la leche está en el queso en forma emulsificada, por lo que son más digestibles. (58)

- **Calcio**

El queso es una fuente excelente de calcio y varía de acuerdo al contenido de agua y el método de manufactura. Al igual que el calcio de la leche, el del queso también es bien asimilado por el cuerpo humano. (58)

- **Vitaminas.**

El contenido de vitaminas A, D, E, depende directamente del contenido de grasa en el producto (de 0 % en los quesos descremados a 70 % en los quesos enriquecidos con crema). El contenido de vitaminas del Complejo B y vitamina C, varían considerablemente de acuerdo al tipo de queso.

Esto resulta de dos factores opuestos: la pérdida durante la elaboración y su enriquecimiento durante el proceso de maduración, en donde las bacterias y hongos sintetizan algunas vitaminas como son: riboflavina, ácido pantoténico, piridoxina, ácido fólico, así como también algo de tiamina. (58)

### **1.2.2.2 Valor Calórico**

El valor nutricional del queso depende del tipo de leche utilizada en su elaboración, de su proceso de fabricación, y de las condiciones de maduración, que condicionan las pérdidas de componentes que experimentan los mismos.

A pesar de esto, de manera general, el consumo de queso reporta en gran número de beneficios entre los que destaca su gran valor nutricional. Es una buena fuente de proteínas con alto valor biológico y con elevado contenido en aminoácidos esenciales; posee un alto valor energético, dependiendo fundamentalmente de la cantidad de grasa, y de su aporte en algunos ácidos grasos esenciales. Además, contiene cantidades

apreciables de minerales, especialmente calcio de fácil asimilación, vitaminas esenciales excepto el ácido ascórbico y puede ser consumido por aquellas personas intolerantes a la lactosa ya que, la que no desaparece durante el proceso de desuerado, va a ser transformada a ácido láctico.

Aunque desde el punto de vista nutritivo, su consumo es recomendable a cualquier edad, es especialmente importante en etapas de crecimiento y desarrollo, así como para el mantenimiento de la masa muscular y ósea.

El aporte energético necesario para cubrir las necesidades corporales proviene esencialmente de la ingesta diaria de alimentos, en particular de aquellos nutrientes llamados energéticos, es decir, los hidratos de carbono, las grasas y las proteínas. La energía potencialmente poseen los alimentos, y que se encuentra almacenada en forma química, se cuantifica en unidades de calor llamadas Kilocalorías y expresan el valor energético o calórico que tienen los alimentos Mataix (2002). Para determinar la energía de un alimento se pueden utilizar métodos directos, como la bomba calorimétrica, que cuantifica el calor de combustión liberado por una cantidad conocida de un alimento. También puede determinarse indirectamente, multiplicando la composición química del queso por los factores de conversión teóricos de calorímetro, tal y como lo describen Kathleen y Escott (2011). Sin embargo, debido a las pérdidas digestivas, tan sólo parte de la energía de los alimentos, la denominación energía metabólica, es aprovechada por células (31)

### 1.2.3 ELABORACIÓN DEL QUESO FRESCO

De acuerdo al Manual de la FAO de Procesos para la elaboración de productos lácteos la preparación de los quesos se realiza a partir de una receta que describe paso a paso el proceso de elaboración y, de este modo, permite lograr una textura y sabor definidos; hacer quesos es una manera de preservar los principios nutritivos de la leche. (63)

### 1.2.3.1 Materias Primas para la Elaboración del Queso Fresco

La NTE INEN 1528:2012, establece en el literal cinco los Requisitos para la elaboración de queso no madurado donde indica las materias primas y materiales, que se pueden utilizar, los cuales deberán cumplir con las demás normas relacionadas o en su ausencia, con las normas del Codex Alimentarius. (65)

- Leche y/o productos obtenidos de la leche

En la NTE INEN 1528:2012 como disposición específica consta que la leche utilizada para la fabricación del queso fresco debe cumplir con los requisitos de la NTE INEN 10 que es la Norma Técnica ecuatoriana Leche Pasteurizada. Requisitos. (65) (69)

González (2002), indica que la leche destinada a la elaboración del queso puede ser de oveja o de cabra, pero la mayor parte es de vaca.

Para la obtención de un buen queso es necesario utilizar leche de excelente calidad, libre de aditivos y residuos de antibióticos, la misma que se debe obtener de un animal sano libre de brucelosis y tuberculosis. También es indispensable que el proceso de ordeño y todas las manipulaciones posteriores de la materia prima se efectúen en condiciones de rigurosa higiene. (21)

Para conservar la calidad del queso fresco, debe realizarse la elaboración inmediatamente después del ordeño o bien conservar la leche a menos de 7°C (se recomienda conservarla, como máximo, 24 horas). (20)

Ingredientes tales como:

- Cultivo de fermentos de bacterias inocuas productoras de ácido láctico y/o aromas y cultivos de microorganismos inocuos.
- Cuajo u otras enzimas coagulantes inocuas e idóneas.
- Cloruro de sodio
- Vinagre

La NTE INEN 1528:2012 indica que se pueden utilizar aditivos permitidos como:

- Gelatinas y almidones modificadas
- Harinas y almidones de arroz, maíz y papa

Además se incluyen aditivos que constan en la NTE INEN 2074

Si bien en las Normas vigentes no se indica la utilización de Cloruro de Calcio, el Codex Alimentarius indica: Que es un aditivo que figura en el cuadro de aditivos permitidos y se puede utilizar en algunos alimentos incluidos los quesos madurados, y no madurados, bajo las condiciones de buenas prácticas de fabricación (BPF) El Codex aCloruro de Calcio, no se indica en ninguna de las normas por lo que no se debería utilizar, sin embargo algunos autores indican que el calcio en forma de ion es parte constituyente de las micelas de caseína que forma el queso, este se insolubiliza durante la pasterización por lo que se tiene que recuperar cuando se efectúa este proceso, se recomienda adicionar de 10 a 20 g de cloruro de calcio por 100 litros de leche, se puede adicionar de dos maneras: como solución de cloruro de calcio y como sal de cloruro de calcio. (82)

### **1.2.3.2 Materiales y Equipos utilizados en la Elaboración de Queso Fresco**

Para la elaboración de queso fresco de acuerdo al Manual del Quesero emitido por la FAO, se identifican los siguientes materiales: (63)

- Olla de acero inoxidable
- Termómetros 0-100°C
- Paños
- Mesa de trabajo de acero inoxidable
- Lira o cuchillo de hoja larga, agitador de acero inoxidable
- Moldes para quesos
- Prensa
- Salmuera
- Cuarto de refrigeración

### 1.2.3.3 Proceso de Elaboración de Queso Fresco

Gonzalez (2002) llama producción de queso fresco a la obtención de la cuajada, que no es más que la coagulación de la proteína de la leche (caseína) por la acción de la enzima renina o cuajo. (21)

Esta operación se da en dos etapas:

1. Formación del gel de la caseína
2. Deshidratación parcial de este gel por sinéresis (desuerado).

Para la elaboración de queso fresco se siguen los siguientes pasos:

- Lavar con detergente apto para contacto con alimentos, enjuagar con agua potable y sumergir los utensilios para desinfectar en 10 litros de agua con 10 mililitros de cloro. (105)
- **Recepción de la materia prima:** En grandes industrias queseras se practican un conjunto de pruebas como acidez, densidad, punto de congelamiento en la leche para saber si es apta o no para la elaboración de quesos, sin embargo en las industrias artesanales aún se trabaja con leche cruda a la cual no se efectúa un estricto control de calidad sino un control muy sencillo que consiste en apreciar sensorialmente la leche. (58)

Mediante el empleo de paños limpios se procede a filtrar las impurezas que puedan afectar el producto final.

- **Pasteurización:** Es imprescindible realizar el tratamiento térmico a 68°C durante 15 minutos o a 63°C por 30 minutos para evitar que el queso sea un riesgo para la salud del consumidor. Es importante respetar los tiempos y temperaturas que se recomiendan para pasteurizar. Porque cuando se aplica un tratamiento térmico severo los componentes principales que forman parte de la leche son notoriamente afectados, si hay fallo en estos parámetros no se va a poder formar

la masa para el queso o, en caso de poder hacerlo, la masa tendrá una consistencia arenosa, se desgranará como una ricotta y no se obtendrá un buen producto (56).

Colocar la olla con la leche en un baño de agua fría hasta que la leche tenga una temperatura de 36°C y luego retirar (105).

Se incorporan aditivos como son el cloruro de calcio para reponer el calcio que se pierde durante la pasteurización y para que ayude a la precipitación de la caseína.

- **Coagulación:** Bonet, y otros (2008), afirman que a la temperatura indicada se adiciona el cuajo, que modificará las cadenas de proteína, que después de un tiempo determinado, genera un gel uniforme que semeja un flan al color de la leche. Consiste en una serie de modificaciones fisicoquímicas de la caseína (proteína de la leche), que conducen a la formación de un coágulo. Tiene lugar debido a la acción conjunta de la acidificación por las bacterias lácticas (coagulación láctica) y de la actividad del cuajo (coagulación enzimática). (7)

La coagulación láctica o ácida es realizada por las bacterias lácticas presentes en la leche cruda o procedentes del fermento, que transforman la lactosa en ácido láctico haciendo descender el pH de la leche, lo que produce la alteración de la caseína hasta la formación de un coágulo.

La coagulación enzimática se produce cuando se añade cuajo a la leche. Durante siglos se ha utilizado en quesería cuajo animal, es decir, el enzima renina extraída del cuarto estómago de los rumiantes lactantes.

Las dificultades de aprovisionamiento a nivel mundial de cuajo, junto con el aumento de precio de las preparaciones comerciales del enzima, han favorecido el desarrollo de otros enzimas coagulantes, tanto de origen animal (pepsinas bovinas y porcinas), como de origen microbiano (proteasas fúngicas, etc.) o vegetal (flores de *Cynara cardunculus*, etc.) El cuajo es una enzima proteolítico que actúa desestabilizando a la caseína, lo que da lugar a la formación de un “gel” o coágulo que engloba al suero y los glóbulos grasos en su interior.

Igualmente, su actividad proteolítica conduce a la formación de compuestos que serán utilizados por las bacterias del fermento para su multiplicación.

La adición del cuajo a la leche es un punto de considerable importancia en la fabricación de queso. En los quesos frescos, de coagulación fundamentalmente láctica, se utilizan pequeñas cantidades de cuajo y se opera a temperaturas bajas (15-20°C) para evitar la actividad óptima de la enzima. En este caso, el cuajo se emplea más bien para facilitar el desuerado, que por su acción coagulante o por su capacidad proteolítica a lo largo de la maduración. La leche deberá contener los fermentos lácticos necesarios para asegurar la acidificación.

La firmeza del cuajo y la textura de la cuajada formada dependerán, fundamentalmente, de la cantidad de cuajo utilizado, de la temperatura (velocidad de coagulación máxima a 40-42°C) y de la acidez de la leche.

- Seguido se preparan las liras que sirven para cortar el gel mencionado, y son implementos con estructura metálica (acero inoxidable) en forma de rectángulo cruzadas por alambres delgados en forma vertical y horizontal por separado. La lira vertical se introduce por una de las orillas de la tina que contiene la cuajada y con todo cuidado y movimientos precisos, se recorre a lo largo, se repite la operación con la lira horizontal y finalmente con la vertical, se repasa de extremo a extremo por lo ancho, la idea es “cubitos” de cuajada de aproximadamente 1 cm<sup>3</sup>, mismos que se convertirán durante el cocimiento y la adición de sal, en granos de cuajada, el efecto del cocimiento con agitación es ayudar a expeler el agua contenida en el gel y dejar fragmentos uniformes logrando cierta consistencia y nivel de humedad. (7)
- **Removido:** Tiene por objeto acelerar el desuerado e impedir la adherencia de los granos, así como posibilitar un calentamiento uniforme. Se efectúa con ayuda de agitadores, que al igual que las liras, pueden ser manuales o mecánicos.
- **Calentamiento:** La elevación de la temperatura permite disminuir el grado de hidratación de los granos de la cuajada favoreciendo su contracción. La subida de la temperatura ha de ser lenta y progresiva, ya que si se produce de forma

brusca se observa la formación de la superficie de los granos de una costra impermeable que detiene el desuerado. Las temperaturas de calentamiento bajas conducirán a cuajadas con mayor contenido de humedad y, por tanto, con más lactosa, que será utilizada por las bacterias lácticas para producir ácido en las primeras fases del período de maduración. Las temperaturas altas de cocción conducen a una cuajada seca y dura, adecuada para una maduración lenta y prolongada.

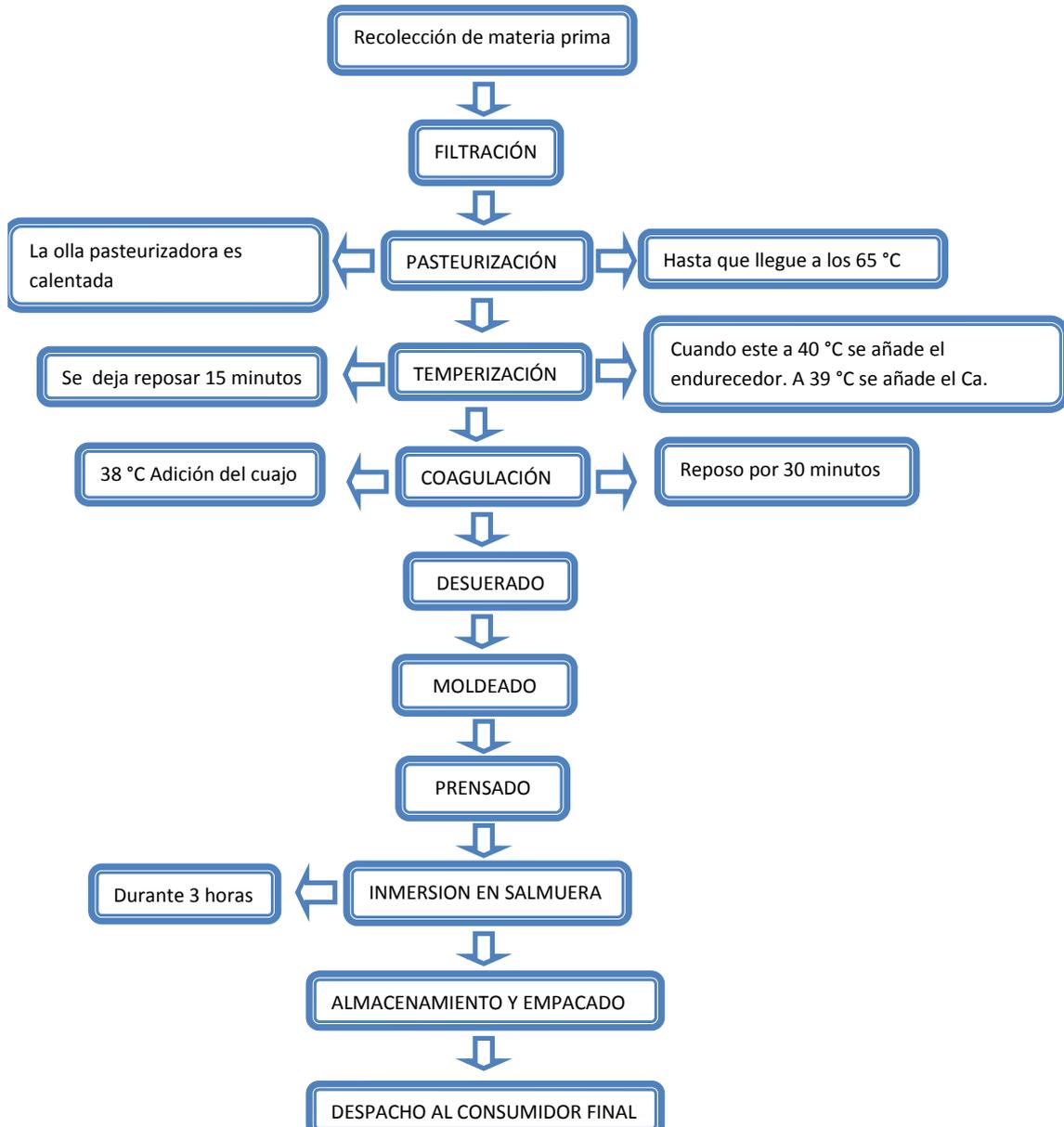
- **Acción de la acidificación:** El cortado, la agitación e incluso el calentamiento por sí solos no permiten en la práctica la obtención de una cuajada adecuada a partir de un coágulo. Es necesaria la intervención de un proceso biológico, la acidificación. Las bacterias lácticas permanecen, en su mayoría, retenidas en los granos de cuajado, Su crecimiento y, por tanto, su actividad acidificante, favorece la expulsión de humedad de la cuajada. La acidificación influye de manera determinante en la composición química y en las características físicas de la cuajada.
- Una vez que el cocimiento termina, se detienen los agitadores y con un “jalador”, la cuajada se lleva al lado opuesto de la válvula de salida de la olla, esto para poder retirar el suero. (7)
- Los granos de cuajada se cohesionan de inmediato conformando un gran bloque, mismo que se secciona para ser sustraído de la tina, los segmentos se colocan en una mesa de acero inoxidable muy limpia y desinfectada, en donde también se encuentran básculas en la misma condición, los trabajadores se disponen a pesar según la presentación, se pesa una mayor cantidad considerando el suero que saldrá por efectos del prensado y el posterior salado. (21)
- Se efectúa el moldeado, o colocación de la cuajada en moldes, cuya forma y tamaño varían con cada tipo de queso.

- **El prensado:** Se efectúa en prensas de queserías, con las que se ejerce sobre la cuajada determinada presión que puede aumentar progresivamente durante el curso de la operación. Las condiciones del prensado son distintas para cada tipo de queso, variando la presión a aplicar, el desarrollo y duración de la operación, etc.
- **Salado:** Es una operación que se efectúa en todos los quesos con el fin de regular el desarrollo microbiano, tanto suprimiendo bacterias indeseables como controlando el crecimiento de los agentes de la maduración. El salado contribuye también en la pérdida de suero que continúa tras el desuerado y mejora el sabor del queso. (7)

Puede realizarse en seco o por inmersión en un baño de salmuera. En el primer caso, lo más frecuente es extender sal sobre la superficie del queso, o bien puede incorporarse directamente a la cuajada mezclándola con ésta. El salado en salmuera es empleado en la fabricación de numerosos quesos. Los quesos se mantienen sumergidos en un baño de salmuera durante un período variable (de seis a sesenta y dos horas en algunos tipos), dándose la vuelta a los quesos periódicamente. (21)

- **Maduración:** El queso que se halla en la salmuera se coloca en estanterías de acero inoxidable por 24 a 48 horas
- **Enfundado:** Los quesos son empaquetados en fundas, adecuadas y listos para su distribución y consumo. Se puede observar el proceso en el Gráfico No 1.

GRÁFICO No. 1. PROCESO DE ELABORACIÓN DE QUESO FRESCO



Fuente: [http://www.inti.gob.ar/atp/pdf/cuadernilloQuesoArtesanalvRicotta\\_2Edic.pdf](http://www.inti.gob.ar/atp/pdf/cuadernilloQuesoArtesanalvRicotta_2Edic.pdf)

## 1.3 CONTROL DE CALIDAD EN LA ELABORACIÓN DEL QUESO

### 1.3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA LECHE

#### 1.3.1.1 Características organolépticas

- **Color:** Debe ser blanco opalescente o ligeramente amarillento.
- **Aspecto:** La leche fresca es de color blanco aporcelanada, presenta una cierta coloración crema cuando es muy rica en grasa. La leche descremada o muy pobre en contenido graso presenta un blanco con ligero tono azulado. Debe presentar un aspecto normal, estar limpia y libre de calostro.
- **Olor:** Debe ser suave, lácteo característico, libre de olores extraños.
- **Sabor:** La leche fresca tiene un sabor ligeramente dulce, dado por su contenido de lactosa. (68)

#### 1.3.1.2 Propiedades Físicas de la leche.

- **Densidad:** La densidad de la leche puede fluctuar entre 1.029 a 1.033 g/cm<sup>3</sup>, a una temperatura de 15°C; u variación con la temperatura es 0.0002 g/cm<sup>3</sup>por cada grado de temperatura.

La densidad de la leche varía entre los valores dados según sea la composición de la leche, pues depende de la combinación de densidades de sus componentes, que son los siguientes:

Agua: 1.000 g/cm<sup>3</sup>

Grasa: 0.931 g/cm<sup>3</sup>

Proteínas: 1.346 g/cm<sup>3</sup>

Lactosa: 1.666 g/cm<sup>3</sup>

Minerales: 5.500 g/cm<sup>3</sup>

La densidad mencionada (entre 1.028 y 1.034 g/cm<sup>3</sup>) es para una leche entera, pues la leche descremada está por encima de esos valores (alrededor de 1.036 g/cm<sup>3</sup>), mientras que una leche aguada tendrá valores menores de 1.028 g/cm<sup>3</sup>. (68)

- **PH** :La leche es de característica cercana a la neutra. Su pH puede variar entre 6.5 y 6.65.

Valores distintos de pH se producen por deficiente estado sanitario de la glándula mamaria, por la cantidad de CO<sub>2</sub> disuelto; por el desarrollo de microorganismos, que desdoblán o convierten la lactosa en ácido láctico; o por la acción de microorganismos alcalinizantes. (68)

- **Viscosidad**: La leche natural, fresca, es más viscosa que el agua, tiene valores entre 1.7 a 2.2 centipoise para la leche entera, mientras que una leche descremada tiene una viscosidad de alrededor de 1.2 cp.

La viscosidad disminuye con el aumento de la temperatura hasta alrededor de los 70°C, por encima de esta temperatura aumenta su valor. (68)

- **Punto de congelación**: El valor varía entre -0.536 y -0.565°C). Como se aprecia es menor a la del agua, y es consecuencia de la presencia de las sales minerales y de la lactosa. (68)

### 1.3.1.3 Propiedades Químicas

- **Agua** :Se puede aceptar que está formada por un 87.5% de sólidos o materia seca total.

a) Agua. El agua constituye la fase continua de la leche y es el medio de soporte para sus componentes sólidos y gaseosos. Se encuentra en dos estados.

Agua libre: (intersticial): Representa la mayor parte del agua y en ésta se mantiene en solución de lactosa y las sales. Es esta el agua que sale de la cuajada en forma de suero.

Agua de enlace: Es el elemento de cohesión de los diversos componentes no solubles y es adsorbida a la superficie de estos compuestos; no forma parte de la fase hídrica de la leche y es más difícil de eliminar que el agua libre. (68)

- **Acidez de la leche:** Una leche fresca posee una acidez de 0.13 a 0.17%, según NTE INEN 09, Esta acidez se debe en un 40% a la anfotérica, otro 40% al aporte de la acidez de las sustancias minerales, CO<sub>2</sub> disuelto y acidez orgánicos; el 20% restante se debe a las reacciones secundarias de los fosfatos presentes.

Una acidez menor al puede ser debido a la mastitis, al aguado de la leche o bien por la alteración provocada con algún producto alcalinizante. Una acidez superior al es producida por la acción de contaminantes microbiológicos. (La acidez de la leche puede determinarse por titulación con NaOH 10N o 9N). (68)

- **Sólidos de la leche:** En lo que se refiere a los sólidos o materia seca la composición porcentual más comúnmente hallada es la siguiente:

Materia grasa: 3.0%

Lactosa: 4.7% (aprox.)

Proteína: 2,9% (68)

#### 1.3.1.4 Características microbiológicas

La leche cruda para el procesamiento de cualquier producto lácteo debe cumplir los requisitos microbiológicos establecidos en la NTE INEN 09 que se observa en la Tabla No.2. (68)

**TABLA No. 2 REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS DE LA LECHE CRUDA**

| <b>Requisito</b>  | <b>Límite máximo</b>  | <b>Método de ensayo</b> |
|---|-----------------------|-------------------------|
| Recuento de microorganismos aerobios mesófilos REP, UFC/cm <sup>3</sup> | 1,5 x 10 <sup>6</sup> | NTE INEN 1529 - 5       |
| Recuento de células somáticas/cm <sup>3</sup>                           | 7,0 x 10 <sup>5</sup> | AOAC – 978.26           |

Fuente: NTE INEN 09

La leche pasteurizada debe cumplir con los requisitos microbiológicos establecidos en la NTE INEN 10, los mismos que se pueden observar en la Tabla No. 3 (69)

**TABLA No. 3 REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS DE LA LECHE PASTEURIZADA**

| Requisitos   | n | m      | M      | c | Métodos de ensayo |
|--|---|--------|--------|---|-------------------|
| Recuento de microorganismos mesófilos, UFC/cm <sup>3</sup> | 5 | 30 000 | 50 000 | 1 | NTE INEN 1529-5   |
| Recuento de coliformes UFC/cm <sup>3</sup>                 | 5 | < 1    | -      | 1 | AOAC 991.14       |
| Detección de <i>Listeria monocytogenes</i> 25g             | 5 | 0      | -      | 1 | NTE INEN 1529-14  |
| Detección de <i>Salmonella</i> /25g                        | 5 | 0      | -      | 0 | ISO 11290-1       |
| Recuento de <i>Escherichia coli</i> , UFC/g                | 5 | < 10   | -      | 1 | NTE INEN 1529-15  |

Fuente: NTE INEN 10

## 1.4 CONTROL DE CALIDAD EN EL QUESO FRESCO

### 1.4.1 ANÁLISIS SENSORIAL DEL QUESO

Según Coste (2005), la apreciación de los alimentos se produce fundamentalmente a través de la percepción sensorial y en las modernas tecnologías, a pesar de disponer de procedimientos de analítica instrumental, cada vez son los científicos más conscientes de la necesidad de potenciar los métodos analíticos basados en dicha apreciación sensorial, que en definitiva son los más adecuados para la valoración final de la calidad de los alimentos, ya que el análisis de los componentes químicos y de las propiedades físicas de un alimento aporta información sobre la naturaleza del estímulo que percibe el consumidor, pero no sobre la sensación que éste experimenta al ingerirlo. (14)

Señala además, que catar (evaluar, analizar) un queso, consiste en examinarlo mediante nuestros sentidos con el objeto de captar y valorar los caracteres que se perciben a través de ellos. Como estos caracteres desempeñan un papel determinante en la decisión de compra del producto por el consumidor, el análisis sensorial es un auxiliar de suma importancia para el control y mejora de la calidad de los quesos. (14)

El queso, como cualquier alimento, además de cumplir parámetros físico-químicos y microbiológicos debe de saber bien, es decir, debe de superar el examen sensorial, ya que el fin de los alimentos, es, además de nutrir al hombre sin dañar su salud, que resulte agradable al paladar.

Para saber de una forma más o menos objetiva si un queso sabe bien, se suelen utilizar métodos perfectamente protocolizados de cata. En el caso del queso, no hay un manual altamente especializados, pero la utilización de las internacionales normas UNE, pueden servir perfectamente para llevar a cabo una cata. En las catas, se resaltan las características del sabor, de los aromas, de la textura, del color, de la vista. Igualmente, la cata la suelen realizar un grupo de catadores entrenados y que de forma más o menos unánime y uniforme detectan estas características.

Las catas tiene por objeto, el valorar qué quesos tienen menos defectos y en cuales se presencian notas sobresalientes. Como norma general, lo más fácil es catar quesos del mismo tipo con el fin de descubrir cuál es el más acertado. (99)

#### 1.4.1.1 APLICACIONES

De acuerdo a Coste (2005), la evaluación de la calidad de los alimentos cada día cobra más importancia en la industria alimentaria, dado las exigencias del mercado competitivo actual y su repercusión en el desarrollo de cualquier empresa, por lo que los análisis sensoriales se utilizan para:

- Control de calidad de materias primas
- Control de calidad de productos finales
- Desarrollo y lanzamiento de nuevos productos
- Comunicación a los consumidores de las características del producto
- Pruebas de mercado para nuevos productos
- Preferencias del consumidor
- Investigación de factores que influyen en el olor y el aroma de alimentos

- Investigación de aroma, etc. (14)

Las propiedades organolépticas de los alimentos, materias primas alimentarias, cosméticos, especialidades de uso oral, y otros, tienen un efecto determinante sobre su consumo y éxito comercial. (109)

#### 1.4.1.2 ATRIBUTOS A EVALUAR EN EL QUESO

Coste (2005), establece que para la evaluación sensorial de productos lácteos que cada atributo se deberá evaluar separadamente y que la evaluación sensorial de los quesos deberá realizarse en relación con los siguientes atributos:

- Apariencia Exterior
- Apariencia Interior
- Consistencia/ textura
- Flavor (olor y gusto)

Las palabras empleadas para describir los olores, el gusto, el color, la textura, etc., implican apreciaciones de valor cualitativo y cuantitativo. (14)

Hay que resaltar que la respuesta organoléptica es debida a combinaciones de sensaciones químicas percibidas; por ejemplo, en el gusto por los receptores situados en la lengua y el paladar, de moléculas esencialmente no volátiles y en el olor sensaciones obtenidas por interacción con los receptores olfativos, extendidos en los pasajes nasales y es debido básicamente a las sustancias volátiles . (109)

- **Apariencia externa**

Coste (2005), indica que la evaluación de la apariencia externa del queso, consiste en el examen visual de la muestra de queso, en los que se consideran los atributos de Forma; tamaño y peso; y corteza. (14)

En cuanto a la forma, dada la gran variedad de quesos existente, es posible encontrar las formas más diversas, las básicas son las geométricas, especialmente cilindro o paralelepípedo, pero también hay esféricas, piramidales o troncocónicas. En ocasiones tienen formas que recuerdan a otros objetos o productos, pueden tener los bordes o aristas rectas o redondeadas, y las caras superior e inferior planas o abombadas (cóncavas, convexas); de igual modo las caras laterales pueden ser rectas o curvas (cóncavas o convexas). Siempre se debe presentar una forma regular del queso.

El tamaño y peso de los quesos también es muy variable, las piezas más pequeñas suelen ser las propias de los quesos de cabra franceses y las pastas blandas, mientras que los mayores son siempre de la familia de las pastas prensadas y cocidas.

La corteza, puede no existir en los quesos frescos, es fina en las pastas blandas y gruesa o muy gruesa en las prensadas y cocidas. Puede ser lisa o estriada y presentarse al natural, con hongos, con especias, ahumada, parafinada, teñida, encerada, cubierta de cenizas, etc. (14)

- **Apariencia interna**

Coste (2005), indica que la valoración de la apariencia interna consiste en el examen visual de la masa o pasta del queso. Los atributos que se evalúan son:

- Color: tono/ matiz
- Intensidad
- Uniformidad
- Brillo/mate
- Aureola o cerco
- Ojos
- Rugosidad
- Humedad y/o grasa.

El color de los quesos está influido por el tipo de leche empleado, por la técnica de elaboración o familia a la que pertenece y por el tiempo de maduración.

El agente colorante en la leche responsable del color de los quesos es el caroteno, un pigmento amarillo con ligeros tintes naranjas, que se encuentra contenido en la grasa de la leche. Como dicha grasa pasa en su mayor parte al queso, se produce una concentración de este color después de la coagulación. En la medida que un queso permanece más tiempo en la cámara de maduración va perdiendo humedad y por consiguiente va aumentando la intensidad del color y disminuyendo el brillo del queso. (14)

Los quesos semiduros o duros suelen tener una coloración más intensa debajo de la corteza que es lo que se denomina aureola o cerco.

Señala además, que la pasta de un queso elaborado con leche pasteurizada al que no se le han adicionado microorganismos para la producción de ojos, debe ser cerrada, puede haber algunos orificios pequeños de contorno irregular que serían de origen mecánico, obtenidos como consecuencia del trabajo con la cuajada y el prensado, a diferencia de los ojos que son de contorno uniforme y producidos por microorganismos. La pasta de los quesos más madurados puede tener una apariencia levemente rugosa (escamosa). (14)

Se reporta que de las propiedades organolépticas a evaluarse, es la que más fácilmente puede ser estandarizada. Existen escalas de colores bien definidas que permiten comparar el color de soluciones líquidas y sólidos, y espectrofotómetros especializados en la determinación del color. No obstante se debe describir el color de los productos ya que hay matizaciones que sólo el ojo humano es capaz de hacer. Tanto en líquidos como en sólidos pueden presentarse interferencias en la percepción del color: transparencia, opalescencia en líquidos, tamaño de partícula, brillo, opacidad en sólidos. (109)

- **Consistencia/textura**

La textura de los sólidos está influida por el tamaño de partícula, la higroscopicidad del producto, el molturado, la plasticidad, etc. En los líquidos su “apariencia” varía fundamentalmente en función de sus propiedades reológicas y de su homogeneidad. (109)

Coste (2005), sostiene que la textura es la propiedad sensorial de los alimentos que es detectada por los sentidos del tacto, la vista y el oído, y que se manifiesta cuando el alimento sufre deformación. También se puede definir a la textura como el conjunto de propiedades mecánicas, geométricas y de superficie de un producto perceptibles por los mecano-receptores, los receptores táctiles y en ciertos casos visuales y los auditivos. (14)

La evaluación de la textura es realizada usando pequeñas piezas de queso obtenidas por corte o de una muestra del centro del queso, doblando, presionando y frotando la muestra entre los dedos índice y pulgar como también por masticación, en los que se consideran los siguientes atributos:

- Mecánicos: dureza, elasticidad, adherencia, cohesividad.
- Geométricos: granulosisidad.
- De superficie: humedad, solubilidad en boca, cremosidad.

Al evaluar la dureza de un alimento, o sea, la fuerza requerida para deformarlo estamos evaluando si es blando, firme o duro y en los quesos lo que se mide es la firmeza. La elasticidad es la rapidez de recuperación de la forma luego de una deformación, la adherencia es el trabajo necesario que hay que realizar con la lengua para despegar el queso del paladar y dientes, y la cohesividad mide el grado de deformación de un alimento antes de romperse, un alimento puede romperse sin ser deformado luego de una cierta deformación, si se rompe sin ser deformado decimos que es frágil, friable (desmenuzable, fácilmente) y la friabilidad (la capacidad de producir trozos más pequeños desde el principio de la masticación) es un atributo que se mide en los quesos, en todo esto tiene mucho que ver la evolución de la humedad del queso, en la mayoría a medida que aumenta la maduración van perdiendo humedad y por lo tanto van aumentando su dureza, se toman menos elásticos y más friables. Cuando se mastica el queso se pueden apreciar las características geométricas, es decir, el tamaño y forma de las partículas que lo forman, y podemos medir la granulosisidad del mismo determinando si es liso, arenoso o granuloso, se busca que el queso tenga una estructura lisa pero en los más curados puede presentarse una estructura arenosa o granulosa al masticarlos. También en boca se mide la solubilidad y cremosidad, la solubilidad suele ser mayor en

los quesos jóvenes ya que son más húmedos, y los más maduros tienden a absorber más saliva que los primeros. La cremosidad es una sensación semilíquida que varía con la crema o sustancia grasa del queso y cuanto más grasa y humedad tienen más cremoso suelen resultar. (14)

- **Olor y Aroma**

Se señala que la percepción del olor de los productos está situada en las fosas nasales. Se emplean varias técnicas para evaluar olores. Además de las técnicas instrumentales que emplean cromatografos de gases y detectores de masas las técnicas manuales implican el conocimiento de como los receptores perciben los olores. El olor es función de la interacción con los receptores olfativos y esta puede variar en intensidad (concentración), temperatura (más volátiles) y tiempo de exposición y en algunos casos la presencia de aditivos que aumentan la sensibilidad de los receptores. El panelista de un ensayo de determinación de olor, puede provocar el flujo de aire a través de su nariz de forma ascendente o descendente, es decir, no sólo olemos aspirando sino también a través de la cavidad bucal se pueden percibir los olores ya sea volátiles o de microgotas transportadas hasta los receptores del olfato. (109)

Coste (2005), indica que es importante remarcar las diferencias entre los parámetros de olor y aroma ya que aunque ambas sensaciones se perciben por el órgano olfativo, el aroma se percibe por vía retronasal (vía indirecta) durante la degustación. Para evaluar el olor se debe acercar la muestra de queso a la nariz con el fin de poder percibir a través de la vía nasal directa los olores que caracterizan al queso, intentando reconocer los olores dominantes. Para completar y mejorar la percepción se aconseja romper en dos la muestra por el centro, cerca de la nariz y aspirar inmediatamente la fuerza del estímulo percibido (intensidad del olor). La evaluación del aroma se realiza tras masticar el queso para propiciar que estos se liberen, tomen la vía retro-nasal y se perciban en el bulbo olfativo. El olor y el aroma de los quesos tienen dos orígenes principales: la materia prima y el afinado. El olor láctico es dominante o casi exclusivo en los quesos jóvenes (frescos), mientras que en los más madurados aparecen otras familias de olores, como consecuencia de una serie de mecanismos, en su mayoría enzimáticos, que transforman

los diferentes componentes de la cuajada (proteínas y lípidos, y principalmente) formando numerosos componentes aromáticos, cuya proporción y naturaleza dependen de la tecnología de elaboración del queso. La intensidad del olor puede ser baja, media o elevada. (14)

Expresar estas sensaciones con palabras resulta muy complejo: por ello Berodier y Cols. citados por Coste (2005), han realizado un trabajo muy útil para la evaluación olfato-gustativa de quesos de pasta dura o semidura. Han definido 8 familias para describir los olores y aromas. Estas familias son los olores:

- Lácticos (leche fresca, acidificada, corteza de queso)
- Vegetales (hierba, verdura cocida, ajo, cebolla, madera )
- Florales (miel, rosa)
- Afrutados (avellana, nuez, cítricos, plátano, piña, manzana, aceites)
- Torrefactos (bizcocho, vainilla, caramelo, tostado)
- Animales (vaca, establo, cuajo, estiércol)
- Especies (pimienta, menta, clavo de olor)
- Otros (propiónico, rancio, jabón, ensilado) (14)

- **Sabor y gusto**

Coste (2005), indica que para evaluar el sabor de las piezas de queso deben ser masticadas y salivadas. El sabor es la sensación percibida por el órgano del gusto (lengua) cuando se lo estimula con ciertas sustancias solubles. Entonces las sensaciones gustativas nos permiten captar la cantidad de sal, dulzor, acidez y amargor del queso. De los cuatro sabores básicos (dulce, salado, ácido y amargo) los más frecuentes en un queso son el ácido y el salado. En los quesos más madurados el sabor es más equilibrado y se hace más intensa la sensación de sal, como consecuencia del agua evaporada en el proceso de maduración.

También se indica que la percepción del gusto se efectúa en las papilas gustativas situadas en la lengua y en el paladar. Las sustancias no tienen en general un sabor único:

lo que se percibe suele ser una sensación compleja originada por uno o más de los gustos básicos: ácido, salado, dulce y amargo. Los productos que presentan gustos ácidos, salados y dulces permiten establecer reglas asociadas a las funciones químicas o a la estructura química del producto. (14)

- Los gustos salinos: provienen en general de sales inorgánicas; los gustos dulces pueden predecirse a partir de la estructura química; los gustos ácidos están definidos por funciones carboxílicas en productos orgánicos y en el gusto característico de los ácidos inorgánicos.
- El gusto amargo: no obedece a parámetros ni reglas y en general suelen presentarse gustos amargos en estructuras químicas muy dispares. Sin embargo, en aminoácidos y péptidos de bajo peso molecular existen reglas bastante bien documentadas para predecir el gusto. Como curiosidad señalaremos que el gusto amargo en bajas concentraciones sirve para resaltar o mejorar el sabor de los alimentos y en ciertos casos como medida de la calidad. Para la determinación estándar de gustos amargos se emplean usualmente cafeína y quinina.
- El gusto dulce: Existe históricamente la idea de que el sabor dulce está asociado a los grupos hidroxilo (-OH) debido a que su presencia es característica en los azúcares. Sin embargo, los compuestos polihidroxilo varían grandemente en capacidad edulcorante, y muchos aminoácidos, algunas sales metálicas, y otros compuestos no relacionados, como el cloroformo ( $\text{CHCl}_3$ ) y la sacarina, son también dulces. Para la determinación estándar de gusto dulce se emplea usualmente glucosa.
- El gusto ácido: Contrariamente a la creencia popular, la acidez de una solución no parece ser determinante de la sensación ácida: más bien, otras características moleculares poco comprendidas, parecen tener una importancia primaria (por ej., peso, tamaño, y polaridad). No se dispone de datos suficientes para determinar si los hidrogeniones ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ), los aniones inorgánicos u orgánicos, o las moléculas no disociadas tienen mucha influencia en la respuesta ácida.
- Astringencia: Se le describe como una sensación seca asociada al sabor percibido, en la cavidad bucal (no en la lengua) que produce un fuerte encogimiento de los tejidos y es de ordinario debida a la asociación de taninos o polifenoles con

proteínas o mucopolisacáridos de la saliva para formar precipitados o agregados fuertemente hidrófilos. Es frecuente para muchos individuos confundir o asociar la sensación astringente con el gusto amargo ya que numerosos polifenoles o taninos presentan ambas sensaciones. Algunos ejemplos de astringencia controlada presente en alimentos son el vino tinto y el té. En el caso del vino se suele reducir la presencia de taninos y polifenoles mediante la adición de proteínas de sangre (Hemoglobina), hidrolizados de colágenos o gelatina. En vegetales o frutos vegetales como el plátano o los nísperos, cuando la maduración es insuficiente aumenta la astringencia confiriendo al producto sabores no deseables.

- El gusto picante: La sensación característica quemante, cortante, aguijoneante que se conoce colectivamente como picante es difícil de separar de las producidas por los efectos de irritación química general y por los efectos lacrimógenos, que de ordinario se consideran sensaciones independientes del sabor. Existen sustancias picantes estrictamente orales (no contienen volátiles) como la pimienta negra y el jengibre, y otras como la mostaza, los rábanos, las cebollas, el ajo o especies aromáticas como el clavo que producen picor y aromas característicos. (109)

#### **1.4.1.3 Impresión global**

Coste (2005), indica que al final de la cata, el catador tiene a veces la necesidad de dar una impresión general del producto catado, es decir, de sintetizar las sensaciones para poder así memorizar mejor el producto. Muchas veces la impresión global se califica con la ayuda de una escala de tres puntos: buena, media o mala. Otras veces se hace uso de los llamados “descriptores de estado” que resumen varias propiedades valoradas con antelación. (14)

## 1.4.2 CONTROL DE CALIDAD EN EL QUESO FRESCO

### 1.4.2.1 Control de Calidad Físico y Químico

Su composición química depende de la preparación de la leche utilizada para la elaboración, del método utilizado y del tiempo de maduración.(80)

En el Ecuador se ha establecido la Norma General para Quesos Frescos. Requisitos NTE INEN 1528:2012 que incluye el análisis físico-químico del queso fresco. (65)

El análisis corriente del queso incluye las determinaciones de humedad y grasa, pero entre otras cosas también es necesario analizar la acidez, pH, y ciertos aditivos. En la Tabla No. 4 se observan los requisitos que deben cumplir los quesos frescos de acuerdo a la NTE INEN 1528:2012, los mismos que son ensayados de acuerdo a la NTE INEN 1528:2012. (65)

**TABLA No. 4 REQUISITOS PARA QUESOS FRESCOS NO MADURADOS ESTABLECIDOS EN LA. NTE INEN 1528:2012.**

| <b>Tipo o clase</b>            | <b>Humedad % max NTE<br/>INEN 63</b> | <b>Contenido de grasa en<br/>extracto seco % m/m<br/>Mínimo NTE INEN 64</b> |
|--------------------------------|--------------------------------------|---|
| Semiduro                       | 55                                   | -   |
| Duro                           | 40                                   | -   |
| Semiblando                     | 65                                   | -   |
| Blando                         | 80                                   | -   |
| Rico en grasa                  | .                                    | 60  |
| Entero ó graso                 | -                                    | 45  |
| Semidescremado o bajo en grasa | -                                    | 20  |
| Descremado ó magro             | -                                    | 0,1   |

FUENTE: NTE INEN 1528:2012

### 1.4.2.2 Control Microbiológico

De acuerdo a la NTE INEN 1528: 2012 de queso fresco, en los requisitos microbiológicos se establece que “los quesos frescos no madurados deben dar ausencia de microorganismos patógenos, de sus metabolitos y toxinas.” (Tabla No.5) (65)

Los quesos frescos no madurados, ensayados de acuerdo con las normas ecuatorianas correspondientes deben cumplir con los requisitos microbiológicos establecidos.

**TABLA No. 5 REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS PARA QUESOS FRESCOS NO MADURADOS**

| Requisitos                           | N | M               | M      | c | Métodos de ensayo |
|--------------------------------------|---|-----------------|--------|---|-------------------|
| Enterobacterias, UFC/g               | 5 | $2 \times 10^2$ | $10^3$ | 1 | NTE INEN 1529-13  |
| <i>Escherichia coli</i> , UFC/g      | 5 | < 10            | 10     | 1 | AOAC 991.14       |
| <i>Staphylococcus aureus</i> , UFC/g | 5 | 10              | $10^2$ | 1 | NTE INEN 1529-14  |
| <i>Listeria monocytogenes</i> /25g   | 5 | Ausencia        | -      | 0 | ISO 11290-1       |
| <i>Salmonella</i> en 25g             | 5 | AUSENCIA        | -      | 1 | NTE INEN 1529-15  |

FUENTE: NTE INEN 1528:2012

Donde:

n = Número de muestras a examinar

m = Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad.

M = Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad

c = Número de muestras permisibles con resultados entre m y M.

## 1.5 CONSERVACIÓN DEL QUESO

En general los productores intentan sacar al mercado sus quesos cerca de un punto óptimo, donde sus cualidades organolépticas se encuentran en su momento álgido, por lo tanto una vez comprado un queso se debe intentar consumir lo antes posible. (87)

El tiempo de conservación varía en función del formato, la textura y el tipo de leche de la especie animal. (29)

Además a la hora de conservar un queso hay que tener en cuenta la temperatura y la humedad ambiental, entre 5 y 10°C, y un porcentaje de humedad del 60 – 80% de humedad, son las condiciones idóneas para la conservación del queso. (39)

Es preferible tener el queso en frío que a temperatura ambiente (de local), ya que con el calor comienza a “sudar”, perdiendo grasa y resecándose.

Para los diferentes tipos de pasta o textura se recomienda las siguientes temperaturas de conservación:

- Quesos de pasta dura: 8-12 °C
- Quesos de pasta blanda y azules: 4-8 °C.
- Quesos frescos: de 2 a 4° C (29)

Los quesos con alto contenido graso se conservaran temporadas más largas y los quesos con menor contenido graso temporadas más cortas. (87) Los quesos de formato pequeño, poco curados, de pasta blanda o procedentes de leches de bajo contenido graso (vaca frisona) son los que tienen una menor conservación, resultando por ello conveniente no conservarlos en frío más de 15 o 20 días. (86)

Las personas, los alimentos y los materiales sin vida son portadores de gérmenes que contaminan unos a los otros. Estos gérmenes son también llamados microorganismos, por ser invisibles a simple vista. Están en todas partes, multiplicándose, causando enfermedades y descomponiendo alimentos.

Los quesos poseen muchos microorganismos, que son responsables por la transformación de la leche y por el curado del queso. (36)

### 1.5.1 CARACTERÍSTICAS DEL QUESO EN SU CONSERVACIÓN

Debemos tener en cuenta que el queso es un alimento vivo, es decir este necesita respirar, así que cuando vayamos a guardarlos, es importante, tapar únicamente, la parte de la pasta del queso que quede al aire, y no la corteza, ya que a través de esta es por donde respira el queso es muy importante a tener en cuenta es, no congelar nunca el queso, ya que este proceso de conservación, desmejora el sabor, el aroma y la textura del mismo.(39)

## 1.5.2 ALMACENAMIENTO DEL QUESO

El objetivo de del almacenamiento es crear las condiciones externas que son necesarias para controlar el ciclo de maduración del queso.

Según el tipo de queso se debe mantener una combinación específica de temperatura y de humedad relativa, en las diferentes cámaras de almacenamiento durante las distintas etapas de maduración.

A los quesos sin corteza se cubren con un film plástico o una bolsa de plástico retráctil, lo cual persigue una doble finalidad, prevenir una excesiva pérdida de agua y proteger la superficie de la infección y la suciedad. (86)

Esta fase corresponde al período de tiempo que transcurre desde el salado del queso hasta su venta, durante el cual debe conservarse en nevera o cámara frigorífica.

A causa de su elevada humedad (60 a 80%) los quesos frescos se alteran rápidamente, las temperaturas elevadas permitirán el crecimiento y desarrollo de los microorganismos presentes. Hay que tener en cuenta que el crecimiento de los microorganismos es dependiente de la temperatura y del tiempo de almacenamiento, cuanto mayor sea el tiempo que mantenemos el queso a temperaturas inapropiadas (temperatura ambiente, expuestos a insectos y roedores, próximos a una fuente de calor...) mayor será el crecimiento de los mismos y esto generará un riesgo intolerable de toxiinfección alimentaria para el consumidor.

### 1.5.2.1 Peligros

De forma relevante:

- Microbiológicos: contaminación y crecimiento microbiano

Y de forma común a otras fases anteriores, por almacenamiento en la cámara de refrigeración o nevera junto con otros alimentos o productos y por suciedad:

- Contaminación física
- Contaminación química

#### **1.5.2.2 Medidas preventivas:**

- Manipulación higiénica. Se debe eliminar diariamente el suero acumulado del lote anterior elaborado y limpiar y desinfectar baldas y nevera periódicamente. Será necesario realizar una limpieza y desinfección más profunda una vez en semana.
- Temperatura correcta, la nevera o cámara de refrigeración debe poseer la potencia frigorífica necesaria para mantener una temperatura igual o inferior a 4°C. Una vez salado el queso debe conservarse en la nevera hasta su venta (4-6°C).
- En la cámara o nevera de refrigeración no se almacenará otros alimentos o productos que no sea el queso.
- Controlar el tiempo de almacenamiento, no se conservara mas allá de su fecha de caducidad.
- Correcto plan de limpieza y desinfección.

#### **1.5.2.3 Límites críticos:**

- Cumplir con unas prácticas correctas higiénicas.
- Temperaturas: igual o inferior a 4-6°C
- Tiempo de almacenamiento no rebasar la fecha de caducidad.
- Ausencia se restos de detergentes o desinfectantes en la nevera o cámara de refrigeración.
- Uso exclusivo de la nevera o cámara frigorífica para el almacenamiento del queso.

#### **1.5.2.4 Vigilancia:**

- Observación visual diaria de los quesos almacenados para detectar posibles alteraciones del aspecto.
- Control higiene quesero.
- Vigilancia de la temperatura y tiempo de almacenamiento.
- Condiciones higiénicas y de funcionamiento del frigorífico.

#### **1.5.2.5 Medidas correctoras:**

En caso de pérdida de control se deberá:

- Restablecer la temperatura a los límites fijados (menor o igual a 4-6°C) y rechazar los quesos que se han mantenido a temperatura excesiva.
- Repetición formación en higiene alimentaria.
- Rechazar los lotes almacenados más allá de la fecha de caducidad.
- Restablecer las pautas de limpieza y desinfección.
- Retirada de cualquier producto almacenado conjuntamente con los quesos en el mismo equipo refrigerador.

#### **1.5.2.6 Registros:**

- Registro de fecha de caducidad del lote de queso elaborado en el día.
- Registro diario de la temperatura de la nevera.
- Parte de limpieza y desinfección. (22)

### 1.5.3 TRANSPORTE

La venta de queso puede darse de dos formas distintas bien por venta directa (venta de queso en la propia explotación a particulares) o por venta indirecta (venta de queso por el artesano o comerciantes minorista, en este caso se establece un circuito de comercialización: artesano quesero-distribuidor-vendedor-consumidor).

En el caso de la venta directa no existe distribución desde el lugar de elaboración hasta el punto de comercialización, por dicha razón, la fase que precede al momento mismo de la venta es el almacenamiento en frío bajo cuidado del artesano quesero (desarrollada anteriormente). En el segundo caso, la venta indirecta, será imprescindible estudiar y evaluar el proceso de distribución. Por tanto a continuación, nos centraremos en la VENTA INDIRECTA: en esta fase la distribución corresponde a la expedición del producto desde su almacenamiento hasta la llegada al punto de venta. (22)

#### 1.5.3.1 Peligros:

Contaminación microbiana. Por ejemplo, por temperaturas elevadas.

Debido a unas condiciones del vehículo de transporte o contenedor, isotermicas o de refrigeración, inadecuadas, o porque el queso no este bien envasado.

- Contaminación física. Por ejemplo, cúmulo de suciedad en el vehículo.
- Contaminación química. Por ejemplo, por contaminación al realizar transporte conjunto con otros alimentos o productos diversos.

#### 1.5.3.2 Medidas preventivas:

- Manipulación higiénica.
- Temperatura correcta: durante el transporte la temperatura debe ser de 4-6°C y no se superaran los 10°C en el punto de recepción.

- Tiempo de transporte controlado. Se debe controlar el número de paradas y el tiempo durante el cual permanecen abierta las puertas del vehículo y los quesos expuestos a temperaturas no adecuadas. Se ha de cuidar que este tipo de operaciones de carga y descarga no supongan un aumento de la temperatura de conservación ni una fuente de contaminación (por ejemplo, aislar los quesos de posibles insectos, tierra y otras fuentes de suciedad que normalmente aparecen durante la y otras fuentes de suciedad que normalmente aparecen durante la circulación del producto).
- Envasado correcto de los quesos.
- Limpieza y desinfección diaria de contenedores. Estos contenedores serán de uso exclusivo para el transporte de los quesos y se transportarán de manera aislada de cualquier otro tipo de alimento. No se transportarán junto con cualquier otro tipo de sustancia o producto.

#### **1.5.3.3 Límites críticos**

- Temperatura: no se rebasarán los 10°C en el punto de recepción del producto.
- Tiempo: no se excederá más allá del tiempo necesario para transportar la mercancía desde el punto de elaboración al de venta y se debe asegurar el mantenimiento de la cadena de frío en todo momento a una temperatura de 4-6 °C.
- Envasado correcto de los quesos.
- Ausencia de suciedad en contenedores y vehículos.

#### **1.5.3.4 Vigilancia:**

- Control de la higiene de quesero
- Vigilancia de la temperatura y del tiempo
- Condiciones higiénicas de los contenedores y del vehículo

- Observación visual de los quesos transportados con el objetivo de detectar posibles alteraciones en el aspecto y envasado.

#### **1.5.3.5 Medidas correctoras:**

- Mejorar la higiene del quesero
- Repetir formación en higiene alimentaria
- Rechazar aquellos quesos en los que se detectan alteraciones en su aspecto
- Corregir temperatura y tiempo de transporte
- Mejorar limpieza y desinfección de vehículo y contenedores.

#### **1.5.3.6 Registros:**

- Temperatura de transporte
- Tiempo de transporte
- Destinos a los que se distribuyen los quesos elaborados (22)

### **1.5.4 ALMACENAMIENTO A TEMPERATURA AMBIENTE**

#### **1.5.4.1 Cuál es el peligro**

Contaminación microbiana de alimentos, cuyos envases estén abiertos, por utensilios, superficies y manipuladores

Crecimiento bacteriano al conservar alimentos que han superado la fecha de caducidad/consumo preferente.

#### **1.5.4.2 Cómo podemos prevenirlo**

Respetando las fechas de caducidad/consumo preferente.

Realizando unas prácticas correctas de almacenamiento:

- Sustituir envases sucios por limpios
- No sobrepasar la capacidad de los almacenes.
- Tapar los alimentos
- Separar los alimentos por tipos para evitar la contaminación cruzada.
- Separar alimentos de productos no alimenticios (detergentes, raticidas, lejías, etc.)
- No dejar alimentos en contacto con el suelo, colocarlos a una altura mínima de 10 cm del suelo.
- Establecer un sistema de rotación del género.
- Almacenar los productos en pequeños recipientes para evitar que el envase entre y salga constantemente del almacén.

Aplicando periódicamente los programas de limpieza.

Aplicando buenas prácticas de manipuladores e higiene personal. (35)

### **1.6 LA CADENA DE FRÍO**

La cadena de frío se ha caracterizado tradicionalmente por tener una alta complejidad, debido a las características propias de los productos perecederos, pudiéndose definir como: “Son los procesos de manipulación, almacenamiento, transporte y comercialización de los productos perecederos, bajo condiciones controladas de temperatura, humedad relativa e higiene, que garanticen la conservación de sus propiedades desde su origen hasta el consumo final”.

La logística en la cadena de frío es la encargada de garantizar su optimización al menor costo y con la calidad necesaria.

### 1.6.1 LA IMPORTANCIA DE LA CADENA DEL FRÍO

La cadena de frío consiste en el control constante de la temperatura en todas las fases de un alimento, desde su producción hasta su consumo, manteniéndolo en un mismo rango de temperatura y garantizando, de esta forma, su buen estado. Se denomina “cadena” porque está formada por diferentes etapas, de manera, que de verse comprometida alguna, podrían derivarse perjuicios para la calidad y seguridad del producto.

Los casos de daños a la salud por rotura de la cadena del frío en los países desarrollados aumentan, según la Organización Mundial de la Salud, en orden a un 30% por año.

Las temperaturas bajas, no solo garantizan las características organolépticas de los alimentos (textura, sabor, olor, color), sino que paralizan la reproducción de microorganismos y demoran la pérdida de calidad de los alimentos. Sin embargo, no debemos olvidar que el frío no mata los microorganismos presentes ni detiene la actividad metabólica de sus componentes, solo reduce la velocidad de crecimiento y de descomposición del alimento. (85)

Cada alimento o producto alimenticio requiere una temperatura idónea, bien sea ambiental, en refrigeración o en congelación. Para ello, esa temperatura debe garantizarse desde que el alimento se prepara, en su distribución, transporte y en la conservación en los hogares. Rompiendo la cadena de frío, se provoca la pérdida de condiciones sanitarias del producto y la proliferación de microorganismos patógenos.

Las etapas clave en la cadena del frío son:

- En el centro de producción: almacenamiento en cámaras o almacenes frigoríficos.
- Transporte en vehículos especiales.
- Distribución y centros de venta.
- Transporte y almacenamiento en el hogar

Los elementos más débiles en la cadena son, en el transporte, los tiempos de carga y descarga, desde la salida del centro de producción hasta los puntos de venta. A ello hay

que sumar el tiempo de los desplazamientos en la adquisición y almacenaje de los productos por el propio consumidor. (85)

Para evitar que en la venta en establecimientos se rompa la cadena de frío, es necesario que nunca se paren las máquinas de refrigeración/congelación y que su temperatura permanezca constante a la recomendada para el producto alimenticio que se trate.

Del mismo modo, para evitar que durante la compra se rompa la cadena de frío de los alimentos, debe realizarse en el siguiente orden:

- Productos no alimentarios
- Alimentos que no necesitan frío para su conservación
- Alimentos refrigerados
- Alimentos congelados
- Comidas de consumo inmediato.

Para colocar y almacenar en casa los alimentos comprados, seguiremos un orden inverso al de compra. Guardaremos en el siguiente orden:

- Comidas de consumo inmediato
- Alimentos congelados
- Alimentos refrigerados
- Productos que no necesitan frío

No todos los alimentos toleran de la misma forma una rotura de la cadena del frío sin contaminarse o alterarse.

El objetivo de la refrigeración es frenar la acción de microorganismos y procesos físico-químicos, de manera que las variaciones de temperaturas provocan que proliferen bacterias patógenas, sobre todo con temperaturas altas, además de alterar las proteínas que generan olores y pardeamientos, resultando (sobre todo las de pescado) las intoxicaciones más peligrosas que existen y las más conocidas, junto con las

intoxicaciones por *Clostridium botulinum*, típica de las conservas mal esterilizadas o embutidos. (85)

Del mismo modo, se pueden congelar prácticamente todos los alimentos, siguiendo unas sencillas reglas para obtener la mayor eficacia y asegurándonos que estén en perfectas condiciones, muy limpios y envueltos para evitar la humedad y el vapor. Si se congela una gran cantidad de alimentos, el congelador deberá regularse, como dos horas antes a la temperatura más baja, reduciendo este tiempo proporcionalmente cuanto menor sea la cantidad de alimento a conservar.

La temperatura de congelación internacional fijada para la cadena de frío es de  $-18^{\circ}\text{C}$ . Esto se debe a que entre  $-4^{\circ}\text{C}$  y  $-7^{\circ}\text{C}$ , microbiológicamente se inhibe el crecimiento de microorganismos patógenos peligrosos para la salud al producir toxinas que pueden provocar intoxicaciones e incluso la muerte. A  $-10^{\circ}\text{C}$  se inhibe la producción de microorganismos que provocan la degradación de los alimentos. A  $-18^{\circ}\text{C}$  se inhiben las reacciones químicas, tales como la reacción de Maillard que provoca el pardeamiento de los alimentos. Finalmente, a  $-72^{\circ}\text{C}$  se inhiben todas las reacciones enzimáticas y el alimento se podrá conservar indefinidamente (pero no resulta posible mantenerlo en todas las etapas por las cuales pasa el alimento ni en coste de mantenimiento). (85)

### 1.6.2 TRANSPORTE

El transporte (barcos, camiones isotérmicos, vagones ferroviarios, contenedores, etc.) es el medio que une todos los elementos de la cadena de frío. El transporte es el principal punto de ruptura de la cadena de frío, de hecho esta afirmación no está totalmente desacertada, pero también en otros procesos como la manipulación y el almacenamiento se presentan riesgos de ruptura de la cadena de frío.

Durante la transportación se deben tener en cuenta un grupo de aspectos para garantizar las condiciones requeridas por los diferentes tipos de productos alimenticios. Entre ellos, se pueden mencionar los siguientes:

- El medio de transporte debe estar bien situado con relación al punto de recepción y despacho y tener una solución que los una para evitar fugas de frío.
- No distribuir las mercancías en vehículos que no sean refrigerados.
- El equipo de frío de los vehículos no debe ser apagado mientras contenga productos.
- Los contenedores de los vehículos refrigerados deben pre-enfriarse antes de cargar y las puertas deben de permanecer abiertas el menor tiempo posible. (85)

### 1.6.3 MANIPULACIÓN

Una de las funciones para garantizar el correcto manejo de la cadena de frío, consiste en perfeccionar al máximo el sistema de recepción y despacho, por cuanto estas operaciones, al no hacerse en forma rápida y con los medios adecuados, ocasionan pérdidas de temperatura con la consecuente incidencia sobre el estado de los productos. (33)

En la actualidad, en varios casos, los productos son descargados y/o cargados a granel, lo que implica que los vehículos permanezcan largo tiempo en las zonas de parqueo, mientras se realiza la operación, ocasionando de esta manera pérdidas de tiempo y temperatura y. por lo tanto, afectando la duración y la calidad de los productos. (35)

### 1.6.4 LA IMPORTANCIA DE LA LIMPIEZA EN LA MANIPULACIÓN DE LOS ALIMENTOS

El alimento debe ser sometido a una manipulación que garantice la inexistencia de daños a la salud.

Las posibles contaminaciones pueden proceder de los siguientes medios:

- Física: objetos o partes de objetos que, cuando son de vidrio o metal pueden ocasionar heridas graves al consumidor del producto contaminado.

- Química: se produce normalmente en el lugar de producción primaria del alimento, por residuos de fitosanitarios en cultivos o medicamentos veterinarios en animales, así como con productos químicos (combustibles, detergentes, etc.) durante el transporte o almacenamiento.
- Biológica: microorganismos que pueden llegar a los alimentos por las manos del hombre, el contacto con otros alimentos o por animales o insectos.
- Cruzada: se produce cuando se transfieren microorganismos entre alimentos (bien sea por almacenamiento, transporte inadecuado o manejo sin higiene de alimentos crudos junto a cocinados), entre alimentos y superficies que han sido contaminadas por otros alimentos, etc. (85)

## **1.7 ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (ETAS)**

Las ETA son aquellas enfermedades que se originan por la ingestión de alimentos infectados con agentes contaminantes en cantidades suficientes para afectar la salud del consumidor.

Los alimentos ya sean sólidos naturales, preparados, o bebidas simples como el agua, pueden originar dolencias provocadas por patógenos, tales como bacterias, virus, hongos, parásitos o componentes químicos, que se encuentran en su interior. (89)

Los síntomas varían -entre los diversos factores que pueden incidir de acuerdo al tipo de contaminación, así como también según la cantidad del alimento contaminado consumido. Los signos más comunes son diarreas y vómitos, pero también se pueden presentar: dolores abdominales, dolor de cabeza, fiebre, síntomas neurológicos, visión doble, ojos hinchados, dificultades renales, etc. Además, ciertas enfermedades transmitidas por alimentos pueden llevar a una enfermedad de largo plazo. Por ejemplo, la *Escherichia coli* puede provocar fallas en el riñón en niños y bebés, la *Salmonella* puede provocar artritis y serias infecciones, y la *Listeria monocytogenes* puede generar meningitis, o un aborto en las mujeres embarazadas.

Sin embargo, existen malestares provocados por los alimentos que no se consideran ETA, como las alergias que se manifiestan a los mariscos y pescados, o a la leche. Para algunas personas, la mayoría de las ETA pueden representar enfermedades pasajeras, que sólo duran un par de días y sin ningún tipo de complicación. Pero, en ciertos casos, las ETA pueden llegar a ser muy severas, dejar graves secuelas o incluso hasta provocar la muerte en personas susceptibles como son los niños, los ancianos, las mujeres embarazadas y las personas con las defensas bajas. (90)

Las enfermedades transmitidas por alimentos pueden manifestarse a través de:

- Infecciones. Son enfermedades que resultan de la ingestión de alimentos que contienen microorganismos vivos perjudiciales. Por ejemplo: salmonelosis, hepatitis viral tipo A y toxoplasmosis.
- Intoxicaciones. Son las ETA producidas por la ingestión de toxinas formadas en tejidos de plantas o animales, o de productos metabólicos de microorganismos en los alimentos, o por sustancias químicas que se incorporan a ellos de modo accidental, incidental o intencional desde su producción hasta su consumo. Ocurren cuando las toxinas o venenos de bacterias o mohos están presentes en el alimento ingerido. Estas toxinas generalmente no poseen olor o sabor y son capaces de causar enfermedades después que el microorganismo es eliminado. Algunas toxinas pueden estar presentes de manera natural en el alimento, como en el caso de ciertos hongos y animales como el pez globo. Ejemplos: botulismo, intoxicación estafilocócica o por toxinas producidas por hongos.
- Toxi-infecciones causadas por alimentos: es una enfermedad que resulta de la ingestión de alimentos con una cierta cantidad de microorganismos causantes de enfermedades, los cuales son capaces de producir o liberar toxinas una vez que son ingeridos. Ejemplos: cólera. (90)

Un brote de ETA sucede cuando dos o más personas sufren una enfermedad similar, después de ingerir un mismo alimento, y los análisis epidemiológicos o de laboratorio lo señalan como el origen de ese malestar. Mientras que un caso de ETA se produce cuando

una sola persona se ha enfermado después del consumo de alimentos contaminados, según lo hayan determinado los análisis epidemiológicos o de laboratorio.

El lugar donde se originan más casos de ETA en las Américas, es en la vivienda (37%), por eso, el papel de las comunidades, y especialmente el de cada persona, cobra un valor fundamental en la tarea de prevenir las enfermedades que son transmitidas por los alimentos.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2000 ha desarrollado las 5 claves de la Inocuidad de los Alimentos, cuya implementación constituyen una accesible manera de evitar las ETA.

Las 5 claves se presentan cada una con una misión especial:

1. Conservar la higiene.
2. Separar alimentos crudos y cocinados.
3. Cocinar completamente los alimentos.
4. Mantener los alimentos a las temperaturas seguras.
5. Usar agua potable y materias primas seguras. (110)

Los patógenos microbianos en alimentos, han sido confirmados como la causa principal de las enfermedades transmitidas por estos productos en Latinoamérica y El Caribe.

*Staphylococcus aureus* es uno de los patógenos microbianos en alimentos, que han sido confirmados como la causa principal de las enfermedades transmitidas por alimentos en Latinoamérica y El Caribe, entre 1993 y el año 2000, en esta región de América ocurrieron 191 brotes por intoxicación estafilocócica con 6 433 afectados y 2 muertes. De estos brotes, 48 correspondieron a Venezuela, de los cuales, en 40 el queso fue el alimento involucrado, afectando a un gran número de personas. (5)

Se estima que un alimento es de riesgo en la intoxicación alimentaria por *S. aureus*, cuando se confirma la presencia de alguna de sus enterotoxinas o tiene una carga del microorganismo igual o superior a 10<sup>5</sup> UFC/g (51).

Generalmente, la determinación cuantitativa de *S. aureus* en alimentos se realiza con la finalidad de establecer su potencialidad para originar intoxicación alimentaria y demostrar contaminación post proceso. (49)

Destacando entre éstas, las infecciones por *Salmonella* y las intoxicaciones por cepas enterotoxinógenas de *S. aureus*. También *Listeria monocytogenes* se ha visto presente aunque no muy comúnmente, así el *S. aureus* es un microorganismo resistente, pudiendo sobrevivir a condiciones ambientales adversas. Son relativamente tolerantes al calor, a la desecación y a los medios con elevadas concentraciones de sal. (49)

*Listeria monocytogenes* cuando se presenta lo hace en poblaciones bien definidas como son: ancianos, niños y mujeres embarazadas causando listeriosis humana la cuál se asocia al consumo de leche contaminada, queso fresco, carne poco cocida y vegetales sin lavar.

Siendo los quesos uno de los alimentos involucrados en las ETAS considerando que según Doyle (2007) , en el Ecuador el queso blanco fresco es uno de los alimentos de mayor consumo, encontrándose una cantidad importante del producto comercializado en el mercado, procedente de pequeños productores, quienes sin preparación técnica alguna, se aventuran a realizar esta actividad, sumando entre los errores que se cometen, como el empleo de materia prima inadecuada y sin ningún tratamiento de higienización, condiciones sanitarias inapropiadas durante el proceso, deficiente refrigeración en el producto terminado y ausencia de empaque acorde este producto se convierte en potencial riesgo para la salud. (15)

La alteración bacteriana de los quesos ocurre con mayor frecuencia durante su elaboración y maduración. Pudiendo originar alteraciones en el queso, ya sea, en su aspecto y propiedades organolépticas (18)

### 1.7.1 MICROORGANISMOS TRANSMITIDOS POR EL QUESO

De acuerdo a Anderson (2000), los productos frescos elaborados a partir de leche y que no son sometidos a tratamientos rigurosos como la pasteurización antes de ser consumido, son los principales focos de transmisión de microorganismos causantes de enfermedades como la salmonelosis, enfermedades entéricas, y en general enfermedades graves caracterizadas por fiebres altas, vómito y diarrea. La leche contiene normalmente no solo su carga microbiana normal, sino los procedentes de contaminaciones diversas por las manipulaciones a la que debe ser objeto. Casi todos los microorganismos proliferan con gran facilidad en la leche que constituye un excelente medio de cultivo. A los microorganismos de la leche pertenece los mohos, levaduras y bacterias. (3)

Entre las que más interesan en el análisis microbiológico de quesos por su significado sanitario son las bacterias coliformes, ya que se consideran como indicadores de *Escherichia coli*. La cuál se encuentra presente en las leches debido al mal ordeño y a las aguas contaminadas empleadas durante el proceso de elaboración de los quesos. Esta bacteria es causa de las mayoría de las diarreas infantiles en niños menores de cinco años, la sintomatología característica, es diarrea abundante, dolor abdominal y fiebre. (3)

El envenenamiento más común por alimentos es el causado por *Staphylococcus aureus*. Este organismo produce varias enterotoxinas que se liberan al medio circundante, o sea al alimento, si se ingiere el alimentos que contiene la toxina se observan reacciones graves dentro de 1 a 6 horas, que incluyen náuseas con vómitos, escalofríos y diarrea. Su toxina es estable al calor y puede permanecer activa por largo tiempo incluso si el alimento se mantiene a bajas temperaturas. (3)

### 1.7.2 PELIGROS ORIGINADOS POR LOS ALIMENTOS

Los peligros para la salud originados por los alimentos pueden derivar de las materias primas utilizadas, la manipulación y todas las fases de elaboración, transporte, almacenamiento y venta de alimentos.

Los principales peligros corresponden a:

- La contaminación microbiana
- Los residuos de plaguicidas y de medicamentos veterinarios.
- Los aditivos alimentarios.
- Los contaminantes ambientales (cadmio, plomo, mercurio, etc.)
- Otros factores (micotoxinas, biotoxinas marinas, inmundicias, etc)

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS) provocadas por alimentos contaminados constituyen el mayor peligro actual para la salud a nivel internacional, dado que los productos alimenticios representan la fuente principal de riesgo respecto de los agentes químicos y biológicos, y afectan a todos los países. (28)

La OMS ha notificado que cada año los siete patógenos principales (*Campilobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *E coli 0157:H7*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* y *Toxoplaspodium gondii*) causan entre 3,3 y 12,3 millones de casos de infección solamente en USA, dando pérdidas de entre 6500 y 34900 millones de dólares.

La OMS ha observado que sólo se notifica un número pequeño de casos de ETAS, su incidencia sería de 300 a 350 veces mayor que lo indicado en las estadísticas, señalando que el 70% de los 1500 millones de diarreas son provocados por la contaminación de los alimentos. (28)

Ha habido brotes debidos a contaminantes como plomo, mercurio o cadmio; adulteraciones de aceite de oliva con aceite mineral. También a toxinas de origen marino (marea roja) y varios casos por contaminación con micotoxinas.

La población de los países en desarrollo está más expuesta a toda una serie de riesgos potenciales por lo que respecta a la calidad e inocuidad de los alimentos, ya que el nivel de preocupación por las cuestiones de calidad e inocuidad de los alimentos está directamente relacionado con el nivel de desarrollo social y económico de un país. (28)

## 1.8 CALIDAD DE LOS ALIMENTOS

García (2009), define la calidad como un término que se ha empleado en actividades productivas de cualquier índole, como vía para garantizar el éxito de las mismas en el mercado y asegurar posiciones de privilegio y preferencia en el mismo. En las producciones relacionadas con los alimentos este concepto es especial y convenientemente aplicable, resulta de hecho un elemento clave para el aseguramiento de la obtención de productos que cumplan con sus especificaciones, sean atractivos, competitivos y que satisfagan, e incluso que superen las expectativas de los consumidores. (107)

Castillo (2009), indica que el manejo de la calidad se siguen esencialmente procedimientos para:

- Establecer la identidad del producto, la cual puede ser establecida arbitrariamente o según un acuerdo en el comprador.
- Ajustar un proceso para que dicha identidad o calidad se mantenga, y
- Vigilar que se mantiene dicha calidad

Como se ve, esta parte del proceso de manejo de la calidad involucra el uso de indicadores para asegurar que cada lote de producción se ajusta a las características requeridas. En la industria de alimentos esto se cumple principalmente mediante auditorias y mediante programas de muestreo y análisis del producto.(10)

Según García (2009), teniendo presente el concepto de calidad y la necesidad que tiene el hombre de adquirir y consumir alimentos, cabe afirmar que a la hora de la elección por parte de cliente de algunos de los valores explícitos a privilegiar, pueden vincularse los mismos con atributos organolépticos, nutricionales, funcionales y comerciales pero teniendo siempre en cuenta que, aunque la totalidad de estos valores deleiten al demandante, no serán suficientes si no es posible brindar una garantía cabal de la característica propia, única e implícita a los alimentos: la inocuidad o seguridad de los mismos. (107)

### 1.8.1 LA INOCUIDAD DE LOS ALIMENTOS

La inocuidad de los alimentos puede definirse como el conjunto de condiciones y medidas necesarias durante la producción, elaboración, almacenamiento, distribución y preparación de los alimentos que es la garantía de que no causará daño al consumidor, cuando sea preparado o ingerido y de acuerdo con el uso a que se destine. La inocuidad es uno de los cuatro grupos básicos de características que junto con las nutricionales, organolépticas y comerciales componen la calidad de los alimentos. (28) (98)

Rodríguez (2006), dice que la clave para lograr alimentos inocuos y de calidad es reforzar todos los eslabones de la cadena alimentaria, hasta que llegan al consumidor o cliente final, incluyendo desde el modo de criar, hasta la elaboración y producción, el empaque, la distribución, la venta, los transportes y almacenamiento intermedios. (55)

Castillo (2009), señala que el manejo de la inocuidad es un proceso igualmente importante que el manejo de calidad. Usualmente, se realiza a base de la aplicación de programas donde se integra: (10)

- La higiene, mediante la aplicación de Buenas Prácticas Agrícolas y/o Buenas Prácticas de Higiene
- La estandarización de procedimientos mediante la escritura de Procedimientos Operativos Estándar de Saneamiento (POES)
- El control de los peligros

El control puede consistir, dependiendo de la medida que se use, en reducir, prevenir o eliminar los peligros. Por ejemplo, si se usa la refrigeración como medida para controlar el crecimiento de *Clostridium botulinum* en quesos, se está previniendo la formación de toxina botulínica resultante de crecimiento de este microorganismo. Si se usa una bacteriocina como aditivo en un producto lácteo, se está reduciendo la cantidad de *Listeria monocytogenes* en el producto durante su almacenamiento, y si se usa la pasteurización para el tratamiento de jugos, se está destruyendo y por tanto eliminando la presencia de bacterias patógenas vegetativas.(10)

La inocuidad alimentaria según Lucas, se considera una responsabilidad conjunta del gobierno, la industria los consumidores, y el gobierno cumple la función de eje de esta relación al crear las condiciones ambientales y el marco legislativo (reglamentos y directrices) necesarios para regular las actividades de la industria alimentaria considerando el interés de todos.

Las leyes y reglamentos en materia de inocuidad alimentaria son fundamentales para proporcionar el marco jurídico necesario para el establecimiento de una infraestructura eficaz de control de la inocuidad de los alimentos. Además, sirve para definir el nivel de calidad mínimo para la industria, mientras que para el consumidor da una definición del alimento inocuo.

Como las normas nacionales constituyen la base de una gestión de la calidad de los productos alimenticios, deben revisarse periódicamente a fin de asegurar que estén en consonancia, en la medida de lo posible, con las normas internacionales generalmente aceptadas. No se puede prescindir de la inocuidad de un alimento al examinar la calidad, dado que la inocuidad es un aspecto de la calidad.

Mejorando la eficiencia del sistema alimentario se incrementa la disponibilidad de alimentos, se protege al consumidor nacional y se fomenta la confianza de los compradores extranjeros en la calidad e inocuidad de las exportaciones de alimentos procedentes del país. Los gobiernos deben asegurar que sus actividades reglamentarias de control de alimentos no creen obstáculos no arancelarios al comercio ni perturben gravemente el comercio regional e internacional y en lo posible adoptar las normas del Codex y adaptarlas, de ser necesario a sus circunstancias específicas, puesto que los Acuerdos de la OMS sobre MSF y OTC han modificado ampliamente el panorama actual del comercio internacional de alimentos.

Estos Acuerdos aceptan las normas alimentarias internacionales del Codex que ha adoptado conceptos de buenas prácticas de fabricación (BPF), códigos de prácticas de higiene y empleo del sistema de análisis de peligros y de puntos críticos de control (APPCC), como medios concretos de gestión y/o control de la inocuidad de los alimentos

y sus otras recomendaciones como puntos de referencia para la introducción de medidas nacionales de protección de los alimentos.

Los gobiernos deberían participar en forma más efectiva en la labor de la Comisión del Codex Alimentarius para así estar mejor informados de los problemas que se plantean respecto de la calidad e inocuidad de los alimentos y la protección del consumidor y de los retos que presentan las tecnologías más recientes para proteger la salud nacional inmediata y a largo plazo y sus intereses económicos, potenciando los comités nacionales del Codex.(28)

## **1.9 CODEX ALIMENTARIUS: NORMAS MUNDIALES**

Desde 1963 existe un código alimentario internacional para garantizar la inocuidad de los alimentos en todo el mundo. El Codex Alimentarius, administrado conjuntamente por la FAO y la Organización Mundial de la Salud, establece normas para los residuos de plaguicidas y de medicamentos veterinarios, los aditivos, las importaciones de alimentos, las inspecciones y los métodos de muestreo de productos alimenticios, entre otras cuestiones. Constituye la base de numerosas normas alimentarias internacionales.

El Codex ha establecido salvaguardias tan conocidas como la etiqueta de «utilizar preferentemente antes de» en los alimentos y definiciones para los productos alimenticios con bajo contenido de grasas y de calorías. Con una evolución constante, está haciendo frente ahora a los nuevos desafíos de la agricultura orgánica y la biotecnología.

Por ejemplo, un grupo de acción del Codex está formulando actualmente recomendaciones sobre las normas de etiquetado para los ingredientes modificados genéticamente. (62)

El Codex examina el asesoramiento científico independiente de órganos como el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios, la Reunión Conjunta FAO/OMS sobre Residuos de Plaguicidas y la Consulta Conjunta FAO/OMS sobre Biotecnología e Inocuidad de los Alimentos.

Los peligros relacionados con la inocuidad de los alimentos se derivan principalmente de los siguientes factores:

- bacterias y otros agentes microbianos debidos a una manipulación inadecuada de los alimentos
- contaminantes del medio ambiente
- residuos de sustancias utilizadas en la producción y elaboración agrícolas, como los plaguicidas

El público considera en general que los residuos agrícolas, los plaguicidas y los medicamentos veterinarios son las principales fuentes de riesgos para la salud, pero esto no es cierto.

En Europa, por ejemplo, les corresponde apenas el 0,5 por ciento de las enfermedades transmitidas por los alimentos. Es más habitual, y posiblemente su frecuencia vaya en aumento, la contaminación por bacterias, protozoos, parásitos, virus y hongos o sus toxinas, introducidos durante la manipulación de los alimentos.

Los casos recientes de enfermedades transmitidas por los alimentos de perfil elevado, como las debidas a la contaminación por dioxinas y al ganado vacuno infectado por la encefalopatía esponjiforme bovina (EEB) o enfermedad de las vacas locas han despertado preocupación en el público acerca de la inocuidad de los alimentos. (62)

### **1.10 VIDA ÚTIL DE LOS ALIMENTOS**

Según Singh (2000), la vida útil (VU) es un período en el cual, bajo circunstancias definidas, se produce una tolerable disminución de la calidad del producto. La calidad engloba muchos aspectos del alimento, como sus características físicas, químicas, microbiológicas, sensoriales, nutricionales y referentes a inocuidad. En el instante en que alguno de estos parámetros se considera como inaceptable el producto ha llegado al fin de su vida útil. (41)

Según Brody (2003), este período depende de muchas variables en donde se incluyen tanto el producto como las condiciones ambientales y el empaque. Dentro de las que ejercen mayor peso se encuentran la temperatura, pH, actividad del agua, humedad relativa, radiación (luz), concentración de gases, potencial redox, presión y presencia de iones. (8)

Según Charm (2007), la VU se determina al someter a estrés el producto, siempre y cuando las condiciones de almacenamiento sean controladas. Se pueden realizar las predicciones de VU mediante utilización de modelos matemáticos (útil para evaluación de crecimiento y muerte microbiana), pruebas en tiempo real (para alimentos frescos de corta vida útil) y pruebas aceleradas (para alimentos con mucha estabilidad) en donde el deterioro es acelerado y posteriormente estos valores son utilizados para realizar predicciones bajo condiciones menos severas. (13)

Para predecir la VU de un producto es necesario en primer lugar identificar y/o seleccionar la variable cuyo cambio es el que primero identifica el consumidor meta como una baja en la calidad del producto, por ejemplo, en algunos casos esta variable puede ser la rancidez, cambios en el color, sabor o textura, pérdida de vitamina C o inclusive la aparición de poblaciones inaceptables de microorganismos. (8)

Según Labuza (1999), posteriormente es necesario analizar la cinética de la reacción asociada a la variable seleccionada, que depende en gran medida de las condiciones ambientales.

Es importante recalcar que la VU no es función del tiempo en sí, sino de las condiciones de almacenamiento del producto y los límites de calidad establecidos tanto por el consumidor como por las normas que rigen propiamente los alimentos (26)

Además indica que la vida útil de un alimento es el periodo que retendrá un nivel aceptable de su calidad alimenticia desde el punto de vista de la seguridad y del aspecto organoléptico, depende de cuatro factores principales; conocer la formulación, el procesado, el empackado y las condiciones de almacenamiento. Actualmente dentro de la terminología del procesamiento moderno estos factores son orientados en el concepto de

HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point), donde se comprende una metodología del control de calidad que apunta a asegurar una "alta calidad". Estos cuatro factores son críticos pero su relativa importancia depende de la peresibilidad del alimento. (26)

#### 1.10.1. DESDE EL PUNTO DE VISTA DE LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

La vida útil está basada en la cantidad de pérdida de calidad que se permitirá antes del consumo del producto. Para los consumidores, el extremo de vida útil es el tiempo cuando el producto absolutamente ya no tiene un sabor aceptable. Para la alta calidad del arte culinario, esto significa un cambio muy pequeño que puede tener lugar, cuando los consumidores quieren una calidad igual a "gusto a fresco" o "como recién preparado". Comprendiendo que nunca se puede satisfacer a todos los consumidores en todo el tiempo, sobre todo para un cierto nivel de calidad y de esos sistemas alimentarios juntamente con sus mecanismos de deterioración es inherentemente complejo, una definición universal de la vida útil es casi imposible establecer. (116)

#### 1.10.2 DESDE EL PUNTO DE VISTA SENSORIAL

La vida útil de un alimento se puede definir como el tiempo que transcurre entre la producción/envasado del producto y el punto en el cual se vuelve inaceptable bajo determinadas condiciones ambientales. La finalización de la vida útil de alimentos puede deberse a que el consumo implique un riesgo para la salud del consumidor, o porque las propiedades sensoriales se han deteriorado hasta hacer que el alimento sea rechazado. En este último caso la evaluación sensorial es el principal método de evaluación, ya que no existen métodos instrumentales o químicos que reemplacen adecuadamente a nuestros sentidos. Este curso da los criterios necesarios de diseño de ensayos de vida útil y análisis de resultados que deben emplearse para definir cuando un producto se ha tornado sensorialmente inaceptable. (116)

### 1.10.3 INDICADORES DE VIDA ÚTIL

La vida útil es un atributo importante de todos los alimentos; guarda relación con la calidad total del alimento y depende de los ingredientes, del sistema de producción, del transporte y del almacenamiento (incluyendo el que se realiza en los hogares). La vida útil puede determinarse mediante una combinación de análisis microbiológicos y químicos en muestras del alimento tomadas a lo largo de su vida de almacén, siguiendo diversas estrategias (Figura No 1). Por ejemplo, las pruebas de almacenamiento, en las que se toman muestras a ciertos intervalos de tiempo y se determina su carga microbiana total y la de ciertos microorganismos alterantes, como *Pseudomonas*, *Brochothrix thermosphacta* o bacterias lácticas. Los recuentos de bacterias viables se comparan con la evaluación química y sensorial del producto, y se establecen correlaciones para identificar los indicadores clave de la alteración inicial de los alimentos. Además, cada vez tiene más relevancia la modelación predictiva, a pesar de que todavía la mayoría de los modelos predictivos tienen por objetivo a los microorganismos patógenos en vez de a los alterantes, que son los que más limitan la vida útil de cualquier producto alimenticio. (97)

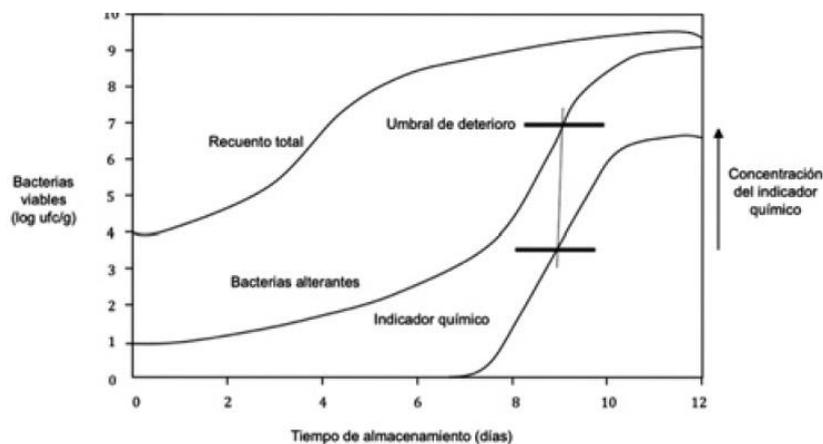
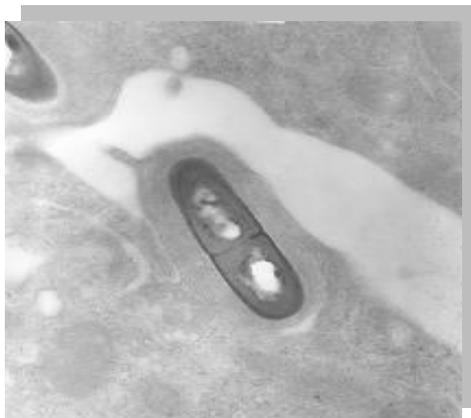


FIGURA No. 1 INDICADORES DE VIDA ÚTIL DE UN ALIMENTO

Diversos compuestos químicos se emplean como indicadores para determinar y predecir la vida útil de los alimentos. La mayoría son sustratos que emplean los microorganismos para crecer o bien metabolitos que se producen en la fase estacionaria del crecimiento microbiano. Entre ellos, destacan los siguientes:

- Glucosa: Representa el principal nutriente para los microorganismos en las carnes rojas, incluidas aquellas envasadas en atmósferas modificadas y a vacío. Tras su agotamiento, las *Pseudomonas* inician la utilización de los aminoácidos, lo que conduce a una rápida alteración.
- Ácidos glucónico y 2-oxoglucónico: Proceden del metabolismo de la glucosa por especies del género *Pseudomonas*.
- Ácidos L-láctico, D-láctico, acético y etanol: La producción de estas sustancias a partir de la glucosa podría ser un buen indicador de iniciación de la alteración de algunos alimentos, como la carne de cerdo o de vacuno.
- Aminas biógenas o biológicamente activas: Ciertas enterobacterias y bacterias lácticas producen aminas biógenas, como la tiramina o la histamina, en una amplia variedad de alimentos. Su producción no conlleva una alteración organoléptica manifiesta pero representa un riesgo para la salud debido, entre otras, a sus propiedades vasoactivas. Estas sustancias se tratarán en detalle posteriormente.
- Compuestos volátiles: La determinación de los compuestos volátiles resulta particularmente útil ya que no requiere el empleo de métodos de extracción a partir del alimento y permite la detección simultánea de productos derivados de la actividad microbiana y otros originados por reacciones químicas en las que no participan los microorganismos. Así, durante la alteración de la leche, se puede detectar 2-metil-butanal, 3-metil-butanal, 2-propanol, etilhexanoato, etilbutanoato, 1-propanol, 2-metil propanol y 1-butanol. Por otra parte, se ha propuesto el empleo de la acetona, metil etilcetona, dimetil sulfuro y dimetil disulfuro como indicadores de alteración de la carne picada, de la acetoína y el diacetilo para el magro de cerdo y de la trimetilamina para el pescado. (40)

## 1.11 GÉNERO *listeria*



FOTOGRAFÍA No. 3 *Listeria*

### 1.11.1 CARACTERÍSTICAS

El género *Listeria* (Fotografía No.3) pertenece a la subrama de Clostridium junto con *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Brochothirx*, Este género comprende en la actualidad seis especies divididas en dos líneas de descendencia: la primera *L. monocytogenes* y las especies emparentadas cercanamente *L. innocua*, *L. ivanovii*, *subespecie ivanni* y *subespecie londoniensis*,) *L. welshimeri* y *L. seeliger* y dos *L. grayi*. Solo son consideradas virulentas las especies *L.monocytogenes* y *L. ivanovii* (73)

El género *Listera* se denomina si en honor al cirujano británico Lord Joseph Lister quien fue el primero en 1860 en el concepto de la cirugía antiséptica para prevenir la sepsis quirúrgica. (6)

La infección por *L. ivanii* es infrecuente y la mayoría de los casos obedece a 3 serotipos de *L. monocytogenes* que son *1/2a*, *1/2b* y *4b*. (52),(75).

### 1.11.2 *Listeria monocytogenes*



FOTOGRAFÍA No. 4 *Listeria monocytogenes* en Agar Palcam

#### 1.11.2.1 Generalidades:

Lamont y otros (2000), dan las siguientes características a *Listeria monocytogenes*: microorganismo capaz de crecer en diferentes rangos de temperaturas ( $-1,5^{\circ}\text{C} - 45^{\circ}\text{C}$ ) y que es capaz de tolerar pH de 4,1 hasta 9,6 y concentraciones elevadas de sal (10 % de cloruro de sodio) (Fotografía No 4), y son móviles a 25 pero no a 35 °C. (52)

Este microorganismo es ubicuo en la naturaleza, se ha considerado durante muchos años un patógeno de animales se encuentra en múltiples reservorios, incluidos mamíferos, insectos y aves.

*L. monocytogenes* es un bacilo anaerobio facultativo grampositivo, flagelado y no formador de esporas. Microscópicamente es difícil de diferenciar de los *Difteroides* comensales. *Listeria* crece sin dificultades en medios líquidos, en agar sangre causa  $\beta$  hemólisis y en la mayoría de los medios rutinarios de cultivo. Las especies que ocasionan enfermedad en los seres humanos producen una estrecha zona de hemólisis beta en agar sangre. (52)

La bacteria es capaz de sobrevivir durante varios meses en el suelo, la pasteurización y la mayoría de los agentes desinfectantes los eliminan. En el 5% de los sujetos sanos se cultiva *L. monocytogenes* en materia fecal en cambio, la colonización de la vagina no es habitual. Se han detectado cepas patogénicas en el tracto gastrointestinal de sujetos

asintomáticos, las cuales son catalasa positiva, oxidasa negativa y el ensayo de Chirstie, Atkins, Munich-Petersen (CAMP) estimula la producción de hemolisina. La bacteria tiene habilidad para evitar las defensas usuales e instalarse facultativamente en forma intracelular o intraleucocitos en la leche. (52) (32)

Su presencia en los alimentos está determinada por su extensa distribución en el ambiente se encuentra en: tierra, aguas servidas, materia fecal, vegetación, ensilados y entorno de la producción de alimentos, lo que confiere una importante oportunidad para contaminarlos, por ello hoy en día se le considera como patógeno humano transmitido por alimentos, es uno de los agentes más importantes de enfermedades de transmisión alimentaria. (32)

Una amplia variedad de especies animales puede infectarse por *L. monocytogenes*, entre las que se encuentran mamíferos, aves, peces y crustáceos, aunque la mayoría de casos de listeriosis clínica tienen lugar en rumiantes, los cerdos raras veces desarrollan la enfermedad y, generalmente las aves son portadoras subclínicas del microorganismo. La mayor parte de las infecciones en animales son subclínicas, pero la listeriosis puede producirse esporádicamente o de forma epidémica. Además del impacto económico de la listeriosis en animales, existe una conexión entre los animales y su papel como fuente de infección para el hombre, bien sea como resultado del contacto directo con animales infectados, especialmente durante el parto de vacas u ovejas, o bien después del consumo de productos de origen animal contaminados. Sin embargo, la importancia relativa de la transmisión zoonótica de la enfermedad al hombre no está clara y aparentemente es más relevante para la Salud Pública la contaminación a partir del ambiente en el que se procesan los alimentos. (52)

### **1.11.2.2 Manifestaciones de listeriosis**

Callon y otros (2001), presenta que la manifestación primaria de la listeriosis en el hombre puede incluir la presencia de septicemia, meningitis (omeningoencefalitis) y encefalitis, habitualmente precedida de síntomas parecidos a los de la gripe, incluida la

fiebre. También se presentan manifestaciones gastrointestinales acompañadas de fiebre. A pesar de que la morbilidad de la listeriosis es relativamente baja, la mortalidad puede alcanzar valores de alrededor del 30%. (48)

En embarazadas, la infección puede dar lugar a abortos, nacidos muertos o nacimientos prematuros.

En los animales, las manifestaciones clínicas de la listeriosis incluyen encefalitis, septicemia y aborto, especialmente en ovejas, cabras y vacas. Se caracteriza por depresión, inapetencia, fiebre y muerte. La forma encefalítica se denomina a veces “enfermedad en círculo” debido a la tendencia a dar vueltas en una dirección, y es la manifestación más común de la enfermedad en los rumiantes. Los síntomas comprenden depresión, anorexia, caída de la cabeza o torcimiento de la cabeza hacia un lado, parálisis facial unilateral y querato conjuntivitis bilateral. El aborto se produce, por lo general, en la última etapa (después de 7 meses en vacas y 12 semanas en ovejas). Normalmente sólo tiene lugar una forma clínica de listeriosis en un grupo particular de animales. También se ha descrito la oftalmítis ovina. Asimismo, se asocia la mastitis de rumiantes con la infección por *L. monocytogenes*. Cuando se produce listeriosis en cerdos, la manifestación primaria es septicemia, son menos frecuentes los casos de encefalitis y raros los abortos.

Aunque las aves son portadoras subclínicas habituales, se han descrito casos esporádicos de listeriosis, siendo más frecuente la septicemia y mucho menos común la aparición de meningo encefalitis. La listeriosis aviar puede ser el resultado de una infección secundaria en condiciones de enfermedad vírica y salmonelosis.

Las evidencias indican que la listeriosis animal es sobre todo una enfermedad de transmisión alimentaria, siendo el medio ambiente la fuente principal de contaminación de los alimentos. La mucosa intestinal es la vía de entrada principal, después de la ingestión oral, en el caso de una listeriosis septicémica/abortiva. El periodo de incubación puede ser muy corto (6)

### 1.11.2.3 Virulencia

Gallegos (2006), en su investigación afirma que se han identificado diversos determinantes moleculares de virulencia que juegan un papel en la infección celular por *L. monocytogenes* y el hecho de que todavía no sea conocido su mecanismo de acción, hace de *L. monocytogenes* uno de los modelos más interesantes de interacción patógeno-hospedador, tanto a nivel celular como molecular. (51)

Estos determinantes de virulencia comprenden, las internalinas, la listeriolisina O (LLO), la proteína Act A, dos fosfolipasas, una metalo proteasa y una hidrolasa de sales biliares. A pesar de que existe polimorfismo entre diferentes cepas de *L. monocytogenes* respecto a algunos de estos determinantes de virulencia, este hecho no puede correlacionarse con la capacidad o la incapacidad del organismo para producir enfermedad.

*L. monocytogenes* ha alertado a las autoridades sanitarias por la gravedad con que se presenta el cuadro de la ETA, que en un 30% de los casos causan la muerte del individuo y donde en la mayoría de los casos el alimento involucrado ha sido de origen lácteo. (51)

La listeriosis, puede ocurrir en adultos y niños en buen estado de salud, constituyendo las mujeres embarazadas un grupo de alto riesgo, en las cuales esta bacteria puede inducir abortos o nacimientos prematuros, que tienen como secuelas la hidrocefalia y deficiencia mental. Otro grupo altamente susceptible son las personas inmunocomprometidas y de la tercera edad.

Presenta además, mayor resistencia térmica en comparación a otras bacterias patógenas no esporuladas. Su resistencia a altas temperaturas, llevó a considerar la necesidad de aumentar los estándares de pasteurización de la leche. Ello debido a un brote de listeriosis ocurrido en EE.UU. en 1983, asociado al consumo de leche pasteurizada. Sin embargo, numerosos estudios posteriores demostraron que la pasteurización a 72 °C durante 15 o más segundos, son suficientes para destruir el bajo número de células de *Listeria*.

Según Bradshaw y otros, *L. monocytogenes* habitualmente está presente en leche cruda. El aislamiento de la bacteria en productos lácteos pasteurizados obedecería por lo tanto a un proceso deficiente o a una recontaminación post tratamiento térmico.

#### **1.11.2.4 Resistencia**

Según Doyle entre los factores que contribuyen a la resistencia térmica de *L. monocytogenes* están, un sistema de proteínas que se activa frente al shock térmico, al ser expuesta la bacteria a temperaturas sub letales previo al tratamiento térmico. Este aspecto debería tenerse en cuenta al utilizar la termización como mecanismo para destruir bacterias saprófitas, previo a la pasteurización. Se ha encontrado también que *L. monocytogenes* presenta mayor resistencia a las altas temperaturas, mientras mayor sea su permanencia en la leche cruda bajo condiciones de refrigeración. Otro factor importante es el contenido graso del alimento, observándose mayor resistencia térmica al encontrarse el patógeno en crema y leche entera. (15)

Según Pitt y otros, Existe cierto consenso en cuanto a que *L. monocytogenes* no podrá ser eliminada completamente del ambiente en un industria de alimentos, o de los alimentos procesados. Es por ello que países como Canadá y naciones de la Unión Europea han establecido como máximo límite de tolerancia 100 UFC/g, para alimentos sin tratamiento térmico previo al consumo, en los cuales la bacteria no pueda multiplicarse. Las autoridades sanitarias de EE.UU. en cambio, han impuesto un límite de tolerancia cero para el patógeno en todos los alimentos. (101)

La contaminación microbiana de queso puede originarse de varias fuentes, durante su producción como son: la salmuera, el suelo y material del empaquetamiento, la tina de queso, la tela, la lira o cuchillo cortante, el cuarto frío y el aire del cuarto de producción, los refrigeradores del almacenamiento han sido también demostrado para ser la fuente de *L. monocytogenes* en la producción de queso hecho de la leche pasteurizada (20).

### **1.11.2.5 Colonización. Patogenia de la infección**

La colonización transitoria del tracto digestivo por *L. monocytogenes* es frecuente; sin embargo, la enfermedad invasiva es muy rara. La bacteria se detecta en materia fecal en alrededor del 70% de las mujeres sanas no embarazadas y en el 44% de las embarazadas. Si bien la gestación no parece modificar el estado de portador en heces, vagina, cuello uterino u orofaringe, dicho estado podría representar un factor predisponente de listeriosis perinatal.

*Listeria* una vez en el aparato digestivo es fagocitado e internalizado por las células epiteliales, el proceso está mediado por la interacción entre la internalina y su receptor, la caderina E, en la superficie de las células epiteliales. El microorganismo es fagocitado por los macrófagos, polimorfonucleares y células plasmáticas; sin embargo, por acción de la listeriolisina sale de las vacuolas fagocíticas y prolifera en el citoplasma de las células infectadas. En el citoplasma, la Act A -otro factor de virulencia- induce la polimerización de la actina y la formación de filamentos, con lo cual el agente se moviliza hacia la membrana celular, donde se forman estructuras símil pseudópodos que, una vez fuera de las células, son fagocitadas por las células vecinas.

Debido a que *L. monocytogenes* puede ingresar al organismo sin comprometer la integridad de la mucosa gastrointestinal, la infección habitualmente es asintomática. La presencia de síntomas puede obedecer a la infección simultánea por otros gérmenes. Aunque el período de incubación no se conoce con precisión, se estima en alrededor de 3 semanas. (56)

### **1.11.2.6 Listeriosis durante el embarazo**

La listeriosis es 18 veces más frecuente durante la gestación, y del 16% al 27% de todos los casos suceden en embarazadas. La prevalencia de la listeriosis perinatal es de 8.6 a 17.4/100 000 nacidos vivos. El mayor brote se produjo en 1985 en Los Ángeles; el 65.5% de los casos se presentó en embarazadas. La causa de este fue la ingesta de queso elaborado con leche no pasteurizada. En ausencia de otros factores de riesgo, la

enfermedad materna grave (meningoencefalitis y endocarditis) es muy rara. La listeriosis tiene lugar, por lo general, en el tercer trimestre del embarazo.

Clínicamente, la listeriosis de la gestación se caracteriza por un síndrome gripal, con fiebre, dolor lumbar, cefalea, vómitos y diarrea, dolores musculares y dolor de fauces. Alrededor del 29% de las mujeres permanece sin síntomas. La placenta infectada se transforma en un reservorio para la reinfección. La listeriosis durante el embarazo se asocia con un pronóstico fetal adverso, especialmente cuando la infección sucede en los primeros meses del embarazo. El aborto, el nacimiento de un niño muerto, el nacimiento pretérmino y la mortalidad perinatal son algunas de las posibles complicaciones de la listeriosis.

#### **1.11.2.7 Listeriosis neonatal**

La listeriosis neonatal suele ser una enfermedad grave y, ocasionalmente, fatal. Obedece a la transmisión vertical de *L. monocytogenes* de la madre al feto mediante la inhalación de líquido amniótico infectado, por vía transplacentaria o por colonización ascendente desde la vagina, casi la mitad de las madres asintomáticas de neonatos con listeriosis tiene cultivos vaginales positivos para *L. monocytogenes*, Otras vías de contagio incluyen la diseminación hemática y la contaminación intrahospitalaria. (101)

Los síntomas de la listeriosis precoz aparecen a las 36 horas en promedio después del nacimiento; en el 50% al 74% de los casos, las madres refieren síntomas gripales. El aislamiento de *L. monocytogenes* en la sangre materna y en el tracto genital es común. Los neonatos con infección precoz, por lo general, nacieron antes de término; la septicemia, el distrés respiratorio o la neumonía y la meningitis son las manifestaciones clínicas más frecuentes. La granulomatosis inflamatoria diseminada (*granulomatosis infantisepticum*) es más rara, pero es una presentación patognomónica de la listeriosis neonatal.

Según Bagó en sus estudios la listeriosis tardía, por lo general, obedece al serotipo 4b; aparece entre 5 días y dos semanas o más después del parto. Habitualmente, se observa en neonatos a término. La infección puede ser asintomática, pero en el 17% al 95% de los enfermos se asocia con septicemia y en el 67% al 93%, con meningitis. La listeriosis neonatal es una de las pocas infecciones congénitas en las cuales el tratamiento con antibióticos puede mejorar la evolución. (101)

#### **1.11.2.8 Diagnóstico**

La infección materna puede ser difícil de diagnosticar por la ausencia de síntomas gastrointestinales y por las manifestaciones sistémicas inespecíficas. La leucocitosis puede ser sugestiva. La coloración de Gram, por lo general, no es útil, debido a que la bacteria es intracelular y porque el bacilo es morfológicamente similar a otros gérmenes habituales de la vagina. El diagnóstico se confirma mediante hemocultivos (maternos o neonatales) y por el cultivo del líquido cefalorraquídeo neonatal, del líquido amniótico, de la cavidad uterina o de la placenta. El crecimiento de *L. monocytogenes* a bajas temperaturas (4 °C) ayuda a su identificación. Los ensayos para la detección rápida del material nuclear y las pruebas serológicas para la listeriolisina pueden ser útiles en el diagnóstico de la listeriosis invasiva o no invasiva. (101)

#### **1.11.2.9 Tratamiento de la listeriosis**

Independientemente de la edad gestacional en el momento de la infección, el tratamiento tiene por objetivo mejorar la evolución neonatal. El diagnóstico precoz y la terapia apropiada mejoran la evolución. A diferencia de otras causas de corioamnionitis, en las cuales la inducción del parto es el abordaje estándar, la mayoría de las mujeres con listeriosis puede ser tratada para que el parto se produzca a término y sin complicaciones, como consecuencia de las características particulares del germen, el tratamiento con antibióticos puede ser ineficaz en hasta un 70% de los casos. La ampicilina, la penicilina y la amoxicilina son los antibióticos de elección, estudios *In vitro*, *L. monocytogenes* es

resistente a las cefalosporinas, clindamicina y cloranfenicol. Si bien se han referido cepas resistentes a la ampicilina, dicho antibiótico representa la primera línea de terapia. La ampicilina atraviesa la placenta en cantidades adecuadas y se une a la proteína de unión a la penicilina – PBP3; el resultado final es la muerte bacteriana. La vancomicina puede ser necesaria en los casos de endocarditis o meningitis. (101)

*Listeria monocytogenes* es un germen infrecuente; la incidencia de la infección durante el embarazo es de 12 cada 100 000 gestaciones. Los autores concluyen señalando que la listeriosis es 18 veces más común en embarazadas respecto de la población general. Aunque la enfermedad materna habitualmente es leve, la listeriosis neonatal se asocia con un 20% a un 30% de mortalidad. (59)

#### **1.11.2.10 Medios de cultivo para detección de *Listeria monocytogenes* en Alimentos**

Los métodos convencionales para el aislamiento de *L. monocytogenes* a partir de alimentos que han ganado aceptación con propósitos reglamentarios internacionales son el método de la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA), el método oficial de la Asociación Oficial de Químicos Analistas (AOAC), las Normas ISO 11290, el método del Servicio de Inspección y Seguridad Alimentaria (FSIS) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) y los Estándares franceses (76).

Dependiendo de la naturaleza de la muestra, un método particular puede ser más adecuado que otro. El Comité Técnico de la Organización Internacional para la Estandarización ISO/TC 34, Subcomité SC 9, Microbiología, de Productos Agroalimentarios, afirma que la Norma ISO 11290, partes 1 y 2 puede utilizarse para la detección de *L. monocytogenes* en una gran variedad de alimentos y productos alimenticios.

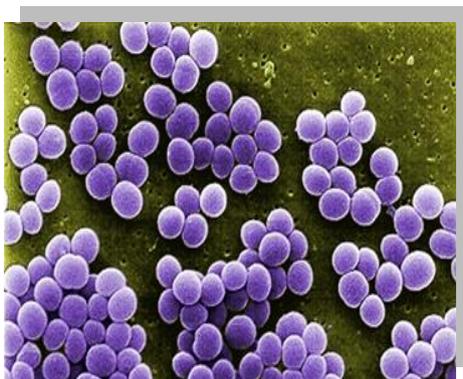
La Norma ISO 11290 recomienda para el aislamiento del patógeno el Agar cromogénico Selectivo para *Listeria*: Aloa, medio selectivo para el aislamiento de *Listeria* sp. y *Listeria monocytogenes* de muestras de alimentos. (101)



**FOTOGRAFÍA No. 5 AGAR CROMOGÉNICO PARA DETECCIÓN DE *L. monocytogenes***

Medio cromogénico (Fotografía No.5) específico para el cultivo y el aislamiento selectivo de *Listerias* por la formación de un compuesto coloreado de color azul verdoso (detección de Beta-glucosidasa) que tiñe las colonias Beta-glucosidasa-positivas y es específico para este organismo. Además en este medio se puede diferenciar *Listeria monocytogenes* por la formación de un halo opaco alrededor de la colonia verde azulada. Otras *Listerias* producen colonias verdeazuladas pero sin formación de halo. La gran mayoría de la flora contaminante es inhibida por los suplementos inhibidores del medio como es *S. faecalis*. Si existe flora contaminante en la muestra esta aparece con colonias incoloras. Este medio está formulado para la detección de *Listeria* en alimentos carnes, quesos y cecinas como así también en pacientes con síntomas de la enfermedad causadas por la ingesta de alimentos, especialmente carnes, quesos, hamburguesas y aves contaminadas con este organismo (76).

### 1.12 *Staphylococcus aureus*



**FOTOGRAFÍA No. 6 *Staphylococcus aureus***

### 1.12.1 CARACTERÍSTICAS

Pahissa (2009) indica que *Staphylococcus aureus* es una bacteria patógena, de amplia distribución en la naturaleza, asociada con infección general y brotes alimentarios.

Bustos lo considera como uno de los principales agentes patógenos para el ser humano. Pertenece a la familia *Micrococcaceae*, del género *Staphylococcus*, el mismo que contiene más de 30 especies diferentes y muchas de éstas son habitantes naturales de la piel y las membranas mucosas del hombre. (34)

*S. aureus*, es muy resistente al calor y la desecación, crecen en medios con alto porcentaje de salinidad (7,5% NaCl). Se lo identifica como un coco gram-positivo, no móvil, que no forma esporas, puede encontrarse solo, en pares, en cadenas cortas o en racimos. Es anaerobio facultativo, pero crece mejor en condiciones aerobias. El microorganismo produce catalasa y coagulasa. Sus colonias miden de 1 a 3 mm, producen un típico pigmento amarillo debido a la presencia de carotenoides y muchas cepas producen hemólisis a las 24-36 horas en agar sangre. (34) (47).

*Staphylococcus aureus* es resistente a la congelación y a la descongelación, se inhibe a temperaturas inferiores a 5°C y no produce la toxina por debajo de 10°C. Este microorganismo se inactiva a temperaturas de cocción (> 65°C). (102)

### 1.12.2 HABITAT

Bustos también indica que pocas bacterias son tan ubicuas como *Staphylococcus aureus*, un microorganismo patógeno presente en piel de animales y personas, además de en sus fosas nasales y gargantas. Pese a su amplia distribución y a la facilidad con la que llega a los alimentos extiende una eventual contaminación, sus efectos son agudos y paratosos pero remiten de forma rápida. (34)

Los manipuladores de alimentos pueden favorecer su rápida extensión.

*Staphylococcus aureus* es un microorganismo muy resistente a las condiciones ambientales y extremadamente difícil de erradicar. Pese a que no es esporulado soporta bien condiciones extremas aunque se inactiva a temperatura de congelación y puede eliminarse con una cocción correcta. (34)

### 1.12.3 MORFOLOGÍA

**Pared celular:** Por ser cocos Gram positivos sus componentes de pared celular son el peptidoglicano y ácidos teicoicos.

El péptidoglicano es la mitad del peso de la pared celular del microorganismo y es el que le proporciona forma y estabilidad, además actúa como endotoxina, los ácidos teicoicos ocupan el 40% del resto de pared celular, están formados por ribitol y N-acetil glucosamina (Polisacárido A). Su propiedad radica en que estos median la unión de *S.aureus* a las superficies mucosas mediante uniones de fibronectina. (34)

Peptidoglicano y ácidos teicoicos están unidos covalentemente entre sí. *S.aureus*. se encuentra recubierto de proteína A, la cuál se usa para la prueba específica de aglutinación de antígenos monoclonales, otra proteína es la coagulasa que puede hallarse ligada a la célula, que es la que convierte directamente el fibrinógeno en fibrina produciendo coagulación del plasma, y la coagulasa libre en el medio, que debe unirse a la protrombina para activarse y catalizar la conversión de fibrinógeno en fibrina. (34)

**Membrana:** Formada por un complejo de proteínas, lípidos e hidratos de carbono, que sirven como barrera para el microorganismo. (34)

**Cápsula:** Capa de polisacáridos denominada también cápsula mucoide y confiere mayor capacidad de adherencia, así como un aumento del efecto antifagocítico. (34)

#### 1.12.4 VIRULENCIA

*Staphylococcus aureus* causa enfermedad mediante sus toxinas, produce una gran variedad de proteínas que contribuyen a su capacidad para colonizar y causar enfermedades en el ser humano. Casi todas las cepas de *S. aureus* producen un grupo de enzimas y citotoxinas.

El Ministerio de Salud Pública de Colombia en Bogotá en la evaluación de riesgos de *Staphylococcus aureus*, enterotoxigénico en alimentos preparados no industriales en Colombia encontró cuatro hemolisinas (alfa, beta, gamma y delta), nucleasas, proteasas, lipasas, hialuronidasa y colagenasa. La función principal de estas proteínas puede ser la de ayudar a degradar los tejidos locales del huésped para convertirlos en nutrientes para las bacterias. Algunas cepas producen proteínas adicionales como la toxina 1 del síndrome del shock tóxico (TSST-1), las enterotoxinas estafilocócicas (SE), las toxinas exfoliativas y la leucocidina (59).

En la tabla No 6 se muestra una clasificación de los factores de virulencia de *S. aureus* teniendo en cuenta si forman parte estructural de la bacteria o si son enzimas o toxinas.

**TABLA No 6 PRINCIPALES FACTORES DE VIRULENCIA DE *S. aureus***

| Estructurales            | Enzimas       | Toxinas   |
|--------------------------|---------------|---|
| Peptidoglicano           | Catalasa      | Toxina<br>(Hemolisina $\alpha$ )                |
| Proteína                 | Hialuronidasa | (Hemolisina beta)                               |
| Factores de adhesión     | Lipasas       | Hemolisina gama                                 |
| Acidos teicoicos         | Coagulasa     | Hemolisina gama                                 |
| Polisacaridos capsulares | Nucleasa      | Leucocidia de Pantone-Valentine (PVL)           |
|                          | Proteasas     | Enterotoxinas estafilocócicas (SE)              |
|                          | Estafilocinas | Toxina 1 del síndrome del shock toxico (TSST-1) |
|                          | Colagenasas   | Toxinas exfoliativas                            |

Fuente: Infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* 2009.

Los factores de virulencia de *S. aureus* participan en la adhesión y adquisición de nutrientes para el microorganismo y sirven también para evadir la respuesta inmune del huésped. En base a esto los factores se han clasificado en tres categorías:

Los involucrados en la adherencia a la célula huésped o matriz extracelular, como las proteínas de unión a fibrinógeno, fibronectina, colágeno y coagulasa.

Aquellos que están involucrados en la evasión de las defensas del huésped, como las enterotoxinas estafilocócicas; la TSST-1, la leucocidina de Panton-Valentine (PVL), proteína A, lipasas, y polisacáridos capsulares.

Los involucrados en la invasión de la célula huésped y penetración de los tejidos, como la toxina  $\alpha$ , hemolisinas  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ .

Las enterotoxinas estafilocócicas, forman parte del grupo de toxinas conocidas como superantígenos toxina pirogénicos, ya que tienen actividad biológica de pirogenicidad y superantigenicidad. Se conoce una gran variedad de estas toxinas: en secuencia alfabética de SEA a SEE, de SEG a J, SEK, SEL, SEP, SEM y SEO.

Los genes que codifican factores de virulencia como las enterotoxinas A a I, TSST-1, las toxinas exfoliativas A y B, y las proteínas asociadas a la superficie, como la proteína de unión al colágeno, los cuales se transfieren horizontalmente entre las cepas. (113)

*S. aureus* produce lesiones superficiales de la piel y abscesos localizados en otros sitios. Causa infecciones del sistema nervioso central e infecciones profundas como osteomielitis y endocarditis. Es causante de infecciones respiratorias como neumonía, infecciones del tracto urinario y es la principal causa de infecciones nosocomiales. Provoca intoxicación alimentaria al liberar sus enterotoxinas en los alimentos y produce el síndrome del shock tóxico al liberar superantígenos en el torrente sanguíneo. Además, causa septicemia, impétigo y fiebres. (115)

Las infecciones por *S. aureus* comienzan por la llamada colonización, la cual puede ocurrir tanto en niños como en adultos. La bacteria localizada generalmente en las fosas nasales y en ocasiones en la piel o en la ropa, puede transmitirse a otras regiones del cuerpo o membranas mucosas. Si la piel o mucosas se rompen por trauma o cirugía, *S. aureus* que es un patógeno oportunista, puede acceder al tejido cercano a la herida provocando daño local o enfermedades de amplio espectro. (113)

Cuando se consumen alimentos contaminados con *S. aureus*, se producen infecciones alimentarias estafilocócicas IAE, causadas por que el microorganismo se ha multiplicado de manera tal que ha alcanzado niveles que producen SE y pueden ser el resultado de combinaciones de múltiples toxinas, las SE causan gastroenteritis, estimulan el peristaltismo intestinal y ejercen un efecto sobre el sistema nervioso central, que se manifiesta por vómitos, los cuales acompañan a la enfermedad gastrointestinal (115).

La toxina 1 actúa como superantígeno estimulando la liberación de varias citocinas, prostaglandinas y leucotrienos, los cuales producen los signos y síntomas del síndrome del shock tóxico que son: fiebre alta, dolor de cabeza, vómito, diarrea, mialgias y rash eritematoso. En adultos puede producir síndrome de dificultad respiratoria, coagulación intravascular y falla renal. (113) (115)

La leucocidina es citotóxica para los monocitos, macrófagos y leucocitos polimorfonucleares del humano. La leucocidina es una proteína que forma poros en la membrana plasmática de los leucocitos, lo cual provoca un aumento en la permeabilidad y eventualmente produce la lisis de la célula. La lisis de los leucocitos produce la liberación de mediadores de la inflamación, con una consecuente respuesta inflamatoria grave. (34)

La toxina  $\alpha$  o hemolisina  $\alpha$ , es considerada como el prototipo de las citotoxinas formadoras de poros, es citolítica para un gran número de células, entre las que se encuentran los monocitos, linfocitos, eritrocitos, plaquetas y células endoteliales. La toxina  $\alpha$  es secretada por *S. aureus* y se integra en la membrana de las células blanco, formando heptámeros cilíndricos que son capaces de lisar las células eucariontes. Los poros que produce permiten la entrada y salida de iones y moléculas pequeñas que eventualmente producen la muerte de las células nucleadas y la lisis osmótica de los eritrocitos. La formación de poros también produce eventos secundarios que promueven el desarrollo de secuelas patológicas. Estos eventos incluyen la activación de endonucleasas, excitosis de plaquetas y liberación de citocinas y mediadores inflamatorios. La producción de tromboxano y prostaciclina activa los mecanismos de vasoconstricción. Además, al romper la integridad celular aumenta la permeabilidad

vascular. El efecto final en el hospedero es el edema pulmonar o síndrome de dificultad respiratoria. La toxina  $\alpha$  es dermonecrótica y neurotóxica. (115)

La hemolisina  $\beta$  tiene actividad de fosfolipasa c, la cual es específica para la esfingomielina y lisofosfatidilcolina. La diferencia en la susceptibilidad de los eritrocitos a la hemolisina  $\beta$  se debe al diferente contenido de esfingomielina en los eritrocitos. Su función durante la enfermedad no está determinada claramente. Sin embargo, se ha visto que le produce una ventaja selectiva a la bacteria.

La hemolisina  $\gamma$  afecta a neutrófilos, macrófagos y a una gran variedad de eritrocitos de mamíferos. No se sabe si induce la liberación de mediadores de la inflamación. La hemolisina  $\delta$  es capaz de causar daño en la membrana de un gran número de células de mamíferos. El 97% de las cepas de *S. aureus* produce hemolisina  $\delta$ . Esta toxina es capaz de hidrolizar eritrocitos y otras células, así como estructuras subcelulares rodeadas por membrana como esferoplastos y protoplastos.

La intensidad de los síntomas depende de la cantidad de alimento contaminado ingerido, de la concentración de la toxina y de la susceptibilidad individual, la cual está mediada por la edad y el estado inmunológico de la persona. Aproximadamente la cantidad de SE que debe ser ingerida para causar IAE no se conoce exactamente, pero se reportan rangos entre 0,1 – 1,0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , esta concentración de SE es alcanzada con cargas microbianas superiores a  $10^5$  UFC/g. El menor número de células de *S. aureus* necesarias para la producción del nivel mínimo de SE considerado necesario para producir enfermedad es diferente para cada sustrato y para cada SE. La SEA se ha detectado en concentraciones de  $10^4$  UFC/g. En leche, se ha detectado SEA y SED con recuentos de  $10^7$  UFC/g pero no por debajo de este nivel. Empleando una cepa productora de SEA, SEB y SED, la SEB y SED se detectaron cuando el recuento alcanzó  $6 \times 10^6$  UFC/mL (1 ng/mL de SE), mientras que la SEA (4 ng/mL) fue detectada con un recuento de  $3 \times 10^7$  UFC/mL (113)

Los factores que determinan los fenómenos de transferencia de *S. aureus* por contacto están ligados a las características de adherencia de la bacteria, a la superficie y a la cantidad del inóculo. Son pocos los estudios sobre transferencia de bacterias en fenómenos de contaminación cruzada, las cepas de *S. aureus* que están en las manos de

los manipuladores son las mismas de los equipos y utensilios de cocina, evidenciando que este fenómeno contribuye a la carga microbiana de los alimentos que requieren procesos de manipulación (15)

#### 1.12.5 MANIPULADORES DE ALIMENTOS Y *Staphylococcus aureus*

Los manipuladores de alimentos son la principal fuente de contaminación por cepas de *S. aureus* asociadas a IAE. *S. aureus* se aísla con frecuencia de la piel y de mucosas de personas y animales; está presente en fosas nasales, garganta, cabello y/o piel del 30 al 50% de las personas saludables y es abundante en pústulas y abscesos. Se estima que *S. aureus* puede encontrarse en la piel de individuos sanos, como microbiota saprofita habitual, en una concentración que oscila entre 10 a 10<sup>3</sup> bacterias/cm<sup>2</sup> (15)

Hay portadores permanentes y ocasionales, y hay quienes son especialmente susceptibles de ser colonizados por cepas coagulasa positiva. Las tasas de portadores se aumentan cuando hay casos de sinusitis, faringitis y procesos gripales. (11)

La diseminación de *S. aureus* enterotoxigénico desde el manipulador al alimento se puede producir por contacto directo e indirecto, por medio de la descamación normal de piel o por medio de aerosoles procedentes del tracto respiratorio cuando se estornuda, tose o habla. (15)

#### 1.12.6 PRESENCIA DE *Staphylococcus aureus* EN ANIMALES

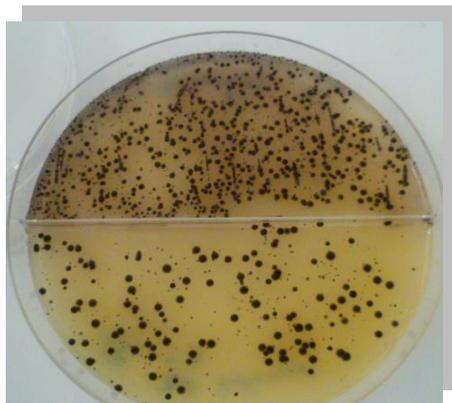
La presencia de *Staphylococcus spp.*, es común en la piel y tegumentos de una amplia variedad de mamíferos y aves, por lo tanto la presencia de animales en la áreas de preparación de alimentos puede ser una potencial fuente de contaminación con *S. aureus* enterotoxigénico. Mascotas y otros animales pueden contaminar alimentos, superficies, utensilios, equipos y manipuladores ya que portan *S. aureus*. (103)

### 1.12.7 MEDIOS DE CULTIVO PARA DETECCIÓN DE *Staphylococcus aureus* EN ALIMENTOS

Los estafilococos crecen rápidamente en casi todos los medios bacteriológicos bajo condiciones aerobias o anaerobias.

Los Medios diferenciales para *S. aureus* son el medio manitol-salino o Chapman y el medio Baird-Parker. Entre los medios diferenciales comerciales se encuentran CHROMagar *S. aureus* (Sensibilidad epidemiológica: 96,8%, 20 horas de incubación), tiñe las colonias de color malva y *S. aureus* ID agar (Sensibilidad epidemiológica: 91,1%, 20 horas de incubación), que tiñe las colonias de color verde. Estos medios comerciales verifican la presencia de  $\alpha$ -glucosidasa durante el desarrollo (las colonias de *S. aureus* coagulasa negativos crecen en color azul, blanco o beige).<sup>1</sup> Su temperatura óptima de crecimiento va de 35 a 40 °C y el pH óptimo oscila entre 7,0 y 7,5 aunque soportan pH mucho más extremos. Soportan tasas elevadas de cloruro sódico, hasta un 15%.(77)

#### 1.12.7.1 Agar Baird Parker



FOTOGRAFÍA No. 7 CRECIMIENTO DE *S. aureus* EN AGAR BAIRD PARKER

Medio de alta especificidad diagnóstica (Fotografía No.7), selectivo y diferencial para el aislamiento y recuento de estafilococos coagulasa positiva en alimentos y otros materiales de importancia sanitaria.(78)

**Composición:**

Se describe en la tabla No 7

**TABLA No. 7 COMPOSICIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO BAIRD PARKER PARA DETECCIÓN DE *S. aureus***

|   |         |
|---|---------|
| Triptona                                | 10,0 g  |
| Extracto de carne                       | 5,0 g   |
| Extracto de levadura                    | 1,0 g   |
| Piruvato de sodio                       | 10,0 g  |
| Glicina                                 | 12,0 g  |
| Cloruro de Litio 6H <sub>2</sub> O      | 5,0 g   |
| Agar                                    | 20,0 g  |
| Sulfamatacina sódica (cuando necesario) | 55,0 mg |

Fuente: <http://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/HB/CE/PA/ES-PA-255084.pdf>

**1.13. ENTEROBACTERIAS**



**FOTOGRAFIA No.8 ENTEROBACTERIA**

Según García y Puertas la familia *Enterobacteriaceae* constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias gram negativas. Reciben su nombre por la localización habitual como saprofitos en el tubo digestivo, aunque se trata de gérmenes ubicuos, encontrándose de forma universal en el suelo, el agua y la vegetación, así como formando parte de la flora intestinal normal de muchos animales además del hombre. (37)

*Escherichia coli*, el microorganismo más prevalente de esta familia, es una de las bacterias prototípicas sometidas a estudio. En la tabla No 8 se detallan los géneros y las especies de enterobacterias con importancia clínica.

**TABLA No 8 TIPOS DE ENTEROBACTERIAS CON IMPORTANCIA CLÍNICA**

|                     |   |
|---------------------|---|
| <i>Escherichia</i>  | <i>coli, alberti, alvei</i>                       |
| <i>Klebsiella</i>   | <i>pneumoniae, oxytoca, granulomatis</i>          |
| <i>Salmonella</i>   | <i>Choleraesuis</i>                               |
| <i>Enterobacter</i> | <i>aerogenes, cloacae, aglomerans</i>             |
| <i>Serratia</i>     | <i>Marcencens</i>                                 |
| <i>Hafnia</i>       | <i>Alves</i>                                      |
| <i>Citrobacter</i>  | <i>freundii, amalonaticus, diversusu</i>          |
| <i>Yersinia</i>     | <i>pestis, enterocolítica, pseudotuberculosis</i> |
| <i>Proteus</i>      | <i>mirabilis, vulgaris</i>                        |
| <i>Providencia</i>  | <i>rettgeri, stuartii</i>                         |
| <i>Morganella</i>   | <i>Morganii</i>                                   |
| <i>Shigella</i>     | <i>dysenterii, flecneri, boydei</i>               |
| <i>Pleisiomonas</i> | <i>Shigelloides</i>                               |
| <i>Edwarsiella</i>  | <i>Tarda</i>                                      |
| <i>Ewingella</i>    | <i>Americana</i>                                  |

Fuente: A. Puerta-García y F. Mateos-Rodríguez Unidad de Enfermedades Infecciosas. Servicio de Medicina Interna. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete. Albacete. España

### 1.13.1 MORFOLOGÍA

Son microorganismos con forma de bastón (Fotografía No 8), por lo general de 1-3 µm de largo y 0,5 µm de diámetro, por ser bacterias gram negativas, su envoltura celular se

caracteriza por una estructura multilaminar. La membrana interna (o citoplasmática) consiste en una doble capa de fosfolípidos que regula el paso de nutrientes, metabolitos y macromoléculas. La capa siguiente, o capa externa, consiste en un peptidoglucano delgado junto con un espacio periplásmico que contiene una elevada concentración de proteínas. La membrana externa compleja consiste en otra doble capa de fosfolípidos que incluyen lipopolisacáridos (LPS), lipoproteínas, proteínas porinas multiméricas y otras proteínas de la membrana externa. (100)

Entre estas proteínas hay algunas organelas complejas que irradian hacia el exterior: los flagelos, estructuras que se utilizan para la locomoción y que provienen de una estructura basal localizada en la membrana interna, las fimbrias (o pili comunes), con importante función como adhesinas y los pili sexuales, estructuras presentes en las bacterias que contienen plásmidos conjugativos y que las bacterias utilizan para mediar la transferencia conjugativa de ADN del plásmido El LPS tiene tres dominios principales: el esqueleto de lípido A, el oligosacárido fosforilado central (core) y las cadenas laterales de oligosacárido de repetición. El lípido A, también conocido como endotoxina, es la parte biológicamente activa de la molécula que el huésped reconoce. El oligosacárido de repetición unido al LPS se conoce como antígeno O. Este antígeno es la base para la clasificación de los sero grupos. Junto con otros factores, la presencia del antígeno O media la resistencia bacteriana al efecto bactericida del suero normal, siendo capaces por tanto de sobrevivir más tiempo en sangre y causando infecciones hematógenas, diseminadas y más graves (92).

### 1.13.2 ENTEROBACTERIAS Y LOS ALIMENTOS

El nivel de Enterobacterias en los alimentos es un buen indicador de la calidad microbiana del alimento y por lo tanto ofrece información importante respecto a la productividad del animal y la seguridad de los alimentos. En los animales, las enterobacterias pueden colonizar el tracto gastrointestinal y causar enfermedades como la Coliobacilosis y la Salmonelosis. Con frecuencia, ésta bacteria puede causar

enfermedades subclínicas, siendo el indicador más obvio la reducción de los índices de producción.

El nivel de Enterobacterias en los alimentos también ha demostrado ser un buen indicador de contaminación por Salmonella. Cuando los niveles de Enterobacteria son altos, la probabilidad de contaminación por Salmonella también será alta, y similar cuando los niveles de enterobacterias son bajos. (92)

El empleo de las Enterobacterias como microorganismos indicadores se basa en que estas bacterias son destruidas por los tratamientos de pasteurización, térmicos o clorados de las aguas con gran facilidad. Por esto, la presencia de altos valores de Enterobacterias en los alimentos es síntoma de fallos en el proceso de elaboración o de conservación que pueden acarrear riesgos para el consumidor. (93)

### 1.13.3 AGAR VRBG



**FOTOGRAFÍA No. 9 CRECIMIENTO DE ENTEROBACTERIAS EN AGAR VRBG**

Agar bilis glucosa que contienen cristal violeta y rojo neutro (Agar VRBG) fue utilizado por Mossel para la detección y recuento de enterobacterias (Fotografía No. 9) en los productos lácteos, la carne, los productos de carne de cerdo y otros productos alimenticios. La presencia simultánea de cristal violeta y sales biliares inhiben Gram-bacterias gram positivas. La degradación de la glucosa a ácido se muestra por el color rojo del indicador de pH, rojo neutro. (79)

El medio contiene cristal violeta y sales biliares que inhiben el crecimiento de la flora acompañante gram positiva, la presencia del rojo neutro permite que se forme un halo violeta al borde de las colonias debido a la acidificación de la glucosa y precipitación de las sales biliares. Las colonias de enterobacterias adquieren en este medio coloración violácea.

### Composición

Se describe en el Tabla No9. pH final  $7,3 \pm 0,2$

**TABLA No. 9 COMPOSICIÓN DEL AGAR VRBG EN g/L**

|                      |       |
|----------------------|-------|
| Peptona de carne     | 7     |
| Extracto de levadura | 3     |
| Glucosa              | 10    |
| Sales biliares       | 1,5   |
| Cloruro sódico       | 5     |
| Rojo neutro          | 0,03  |
| Violeta cristal      | 0,002 |
| Agar bacteriológico  | 12    |

Fuente: [http://www.oxid.com/UK/blue/prod\\_detail/prod\\_detail.asp?pr=CM1082%20&org=66](http://www.oxid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM1082%20&org=66)

### 1.14. BACTERIAS COLIFORMES



**FOTOGRAFIA No 10 COLIFORMES**

Bacterias Coliformes es el nombre general para una variedad de bacterias que incluye a las coliformes fecales y a *E.coli*, son bacilos Gram negativos (Fotografía No. 10), no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos que fermentan la lactosa con producción de ácido y gas, aunque algunos pueden ser fermentadores tardíos o no fermentadores, como *Citrobacter* y *Serratia*, respectivamente. (83)

Las Coliformes fecales y la *E. coli* son bacterias más peligrosas que proceden de los excrementos de los animales y los seres humanos, por lo general, a través de sistemas sépticos mal mantenidos o construidos, de grietas en los tuberías de aguas negras o de excrementos de animales en la proximidad de una fuente de agua. (84)

La mayoría de ellos coliformes pueden encontrarse en la flora normal del tracto digestivo del hombre o animales, por lo cual son expulsados especialmente en las heces. Por esta razón, su presencia constante en la materia fecal, los coliformes son el grupo más ampliamente utilizado en la microbiología de alimentos como indicador de prácticas higiénicas inadecuadas. (83)

Para su estudio, se dividen en dos grupos:

- El grupo de bacterias coliformes totales el cual comprende a todos los bacilos Gram-negativos aerobios o anaerobios facultativos, no esporulados, que fermentan la lactosa con producción de gas en un lapso máximo de 48 h. a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Este grupo está conformado por 4 géneros principalmente: *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter* y *Klebsiella*.
- El grupo de coliformes fecales, está constituido por bacterias Gram-negativas capaces de fermentar la lactosa con producción de gas a las 48 h de incubación a  $44.5 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ . Este grupo no incluye una especie determinada, sin embargo la más prominente es *Escherichia coli*. (104)

#### 1.14.1 CARACTERES BIOQUÍMICOS

El grupo coliforme agrupa a todas las bacterias entéricas que se caracterizan por tener las siguientes propiedades bioquímicas:

- aerobias o anaerobias facultativas
- bacilos Gram negativos
- Oxidasa negativos
- No ser esporógenas
- Fermentar la lactosa a 35 °C en 48 horas, produciendo ácido láctico y gas.

#### 1.14.2 HÁBITAT

Las bacterias de este género se encuentran principalmente en el intestino de los humanos y de los animales de sangre caliente, es decir, homeotermos, pero también ampliamente distribuidas en la naturaleza, especialmente en suelos, semillas y vegetales.

Los coliformes se introducen en gran número al medio ambiente por las heces de humanos y animales. Por tal motivo suele deducirse que la mayoría de los coliformes que se encuentran en el ambiente son de origen fecal. Sin embargo, existen muchos coliformes de vida libre.

#### 1.14.3 COLIFORMES COMO INDICADORES

El uso de los coliformes como indicador sanitario puede aplicarse para:

- La detección de prácticas sanitarias deficientes en el manejo y en la fabricación de los alimentos.
- La evaluación de la calidad microbiológica de un producto, aunque su presencia no necesariamente implica un riesgo sanitario, cuando los coliformes no

necesariamente implica un riesgo sanitario, cuando los coliformes son de origen no-fecal.

- Evaluación de la eficiencia de prácticas sanitarias e higiénicas en el equipo.
- La calidad sanitaria del agua utilizada en las diferentes áreas del procesamiento de alimentos.

La demostración y la cuenta de microorganismos coliformes, puede realizarse mediante el empleo de medios de cultivos líquidos o sólidos con características selectivas o diferenciales. Para la cuenta en placa se usa el agar-lactosa-bilis-rojo violeta (VRB). (83)

#### 1.14.4 BACTERIAS QUE INTEGRAN EL GRUPO

El grupo coliforme está formado por los siguientes géneros:

- *Escherichia*
- *Klebsiella*
- *Enterobacter*
- *Citrobacter*

No todos los autores incluyen al género *Citrobacter* dentro del grupo coliforme. (74)

#### 1.14.5 AGAR VRB



FOTOGRAFIA No. 11 CRECIMIENTO DE COLIFORMES EN AGAR VRB

Agar selectivo para la demostración y enumeración de bacterias coliformes (Fotografía No. 11), especialmente *Escherichia coli* según Davis en agua, leche, helados, carnes y otros alimentos. Puede contener MUG 4-methylumbelliferyl- beta- D- glucuronide optativamente.

El violeta cristal y las sales biliares inhiben el desarrollo de la flora acompañante Gram positiva.

La degradación de la lactosa a ácido por la *E. coli* se pone de manifiesto por el viraje al rojo del indicador Rojo Neutro.

Las bacterias coliformes lactosa positivas incluyendo la *Escherichia coli* se manifiestan como colonias rojas rodeadas de un precipitado rojizo con un tamaño de 1 a 2 mm. En el medio con MUG las colonias de *E. coli* se observan fluorescentes con una lámpara de UV de onda larga. Los *Enterococos* y *Klebsiellas* aparecen en este medio como colonias muy pequeñas (cabeza de alfiler) de color rosado. Las enterobacteriáceas lactosa negativas aparecen incoloras transparentes. (117)

### Composición:

Se describe en la tabla No 10

**pH:7,4 ± 0,1 (90)**

**Tabla No. 10 COMPOSICIÓN DEL AGAR VRB**

|  |        |
|--|--------|
| Peptona                                    | 7,0g   |
| Extracto de levadura                       | 3,0 g  |
| Lactosa                                    | 10,0 g |
| Cloruro de sodio                           | 5,0 g  |
| Sales biliares                             | 1,5 g  |
| Rojo neutro (solución alcohólica al 1%)    | 3,0 mL |
| Cristal violeta (solución acuosa al 0,05%) | 4,0 MI |
| Agar                                       | 15 g   |

FUENTE: [http://www.scharlabmagyarorszag.hu/katalogus/01-164\\_TDS\\_EN.pdf](http://www.scharlabmagyarorszag.hu/katalogus/01-164_TDS_EN.pdf)

### **1.15 BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA (BPM)**

En el Ecuador en el gobierno de Noboa G, mediante Decreto Ejecutivo 3253 del 4 de Noviembre del 2002 y publicado en el registro oficial 696 fue expedido el Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura para Alimentos Procesados, y en el considerando se indica que: “Es deber del Estado garantizar el derecho a la salud, su promoción y protección por medio de la seguridad alimentaria, fomentará y promoverá la salud individual y colectiva, que el país cuente con una normativa actualizada para que la industria alimenticia elabore alimentos sujetándose a normas de buenas prácticas de manufactura, las que facilitarán el control a lo largo de toda la cadena de producción, distribución y comercialización, así como el comercio internacional, acorde a los avances científicos y tecnológicos, a la integración de los mercados y a la globalización de la economía. (60)

Este reglamento define a las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) como: “Los principios básicos y prácticas generales de higiene en la manipulación, preparación, elaboración, envasado y almacenamiento de alimentos para consumo humano, con el objeto de garantizar que los alimentos se fabriquen en condiciones sanitarias adecuadas y se disminuyan los riesgos inherentes a la producción”. (60)

Busetti, M. Langbehn , C. y Suarez, V. (2004), señalan que se entiende por Buenas prácticas de Manufacturas de alimentos (BPM), el conjunto de operaciones de higiene y elaboración que incluyen recomendaciones sobre procesos, la materia prima, producto, instalaciones, equipos y personal con el objetivo de obtener alimentos inocuos, y que establecen los requerimientos mínimos con relación a manejo de instalaciones, recepción y almacenamiento, mantenimiento de equipos, entrenamiento e higiene del personal, limpieza y desinfección, control de plagas, rechazo de productos, control de proveedores y control de calidad.(9)

Valladares, O y Faría, J. (2005), reportan que las BPM deben emplearse a lo largo de todo ciclo de producción de la leche, desde los corrales de ordeño o mejor aún desde los

potreros. Por supuesto, en una industria las prácticas de mejora en los procesos se pueden aplicar con más facilidad, siendo necesaria la promoción y la adopción de normas para asegurar la calidad de la leche.(43)

Por otra parte Albarracín, F y Carrascal, A (2009), en su trabajo Manual de Buenas Prácticas de Manufacturas para microempresas lácteas, define a BPM como: “los principios básicos y las prácticas generales de higiene en la manipulación, elaboración, envasado, almacenamiento, transporte y distribución de alimentos para consumo humano, con el objeto de garantizar que los productos se fabriquen en condiciones sanitarias adecuadas y se disminuyan los riesgos inherentes a la producción” (2)

También Indican que la aplicación de las BPM en la industria láctea sirve para:

1. Para producir alimentos seguros e inocuos y proteger la salud del consumidor.
2. Para tener control higiénico de las áreas relacionadas con el procesamiento de derivados lácteos.
3. Para sensibilizar, enseñar y capacitar a los técnicos y manipuladores en todo lo relacionado con las prácticas higiénicas.
4. Para mantener los equipos y utensilios en perfecto estado de limpieza y desinfección.(2)

Ventajas de la implementación de BPM

1. Estandarizar la calidad sanitaria de los alimentos
2. Mejorar las condiciones de higiene en los procesos y garantizar la inocuidad.
3. Competir con mercados exigentes
4. Mantener la imagen de los productos y aumentar las ganancias, por ende la calidad de vida de los productos.
5. Garantizar una estructura física acorde con las exigencias sanitarias
6. Utilizar equipos y utensilios reglamentados en la normatividad vigente (2)

Con las BPM se procura mantener un control preciso y continuo sobre:

1. Instalaciones
2. Equipos y utensilios.
3. Requisitos Higiénicos de Fabricación – Personal
4. Materias Primas e Insumos
5. Operaciones de Producción
6. Envasado, etiquetado y empaquetado
7. Almacenamiento, Distribución, Transporte y Comercialización
8. Garantía de Calidad Capítulo Único del Aseguramiento y Control de calidad (60)

#### 1.15.1 REQUISITOS PARA CUMPLIR CON LAS BPM

##### 1.15.1.1 Instalaciones

- Los establecimientos donde se procesen, envasen y/o distribuyan alimentos serán responsables que su funcionamiento esté protegido de focos de insalubridad que representen riesgos de contaminación, diseñados y construidos en armonía con la naturaleza de las operaciones y riesgos asociados a la actividad y al alimento.
- La edificación debe diseñarse y construirse de manera que: Ofrezca protección contra polvo, materias extrañas, insectos, roedores, aves y otros elementos del ambiente exterior y que mantenga las condiciones sanitarias; la construcción sea sólida y disponga de espacio suficiente para la instalación; operación y mantenimiento de los equipos así como para el movimiento del personal y el traslado de materiales o alimentos; Brinde facilidades para la higiene personal; y las áreas internas de producción se deben dividir en zonas según el nivel de higiene que requieran y dependiendo de los riesgos de contaminación de los alimentos.

Los pisos, paredes y techos tienen que estar contruidos de tal manera que puedan limpiarse adecuadamente, mantenerse limpios y en buenas condiciones; las cámaras de refrigeración o congelación, deben permitir una fácil limpieza, drenaje y condiciones sanitarias, las ventanas y otras aberturas en las paredes se deben construir de manera que eviten la acumulación de polvo o cualquier suciedad, las escaleras, elevadores y estructuras complementarias se deben ubicar y construir de manera que no causen contaminación al alimento o dificulten el flujo regular del proceso y la limpieza de la planta; deben ser de material durable, fácil de limpiar y mantener, la red de instalaciones eléctricas, de preferencia debe ser abierta y los terminales adosados en paredes o techos, las áreas tendrán una adecuada iluminación, con luz natural siempre que fuera posible, deben existir mecanismos para controlar la temperatura y humedad del ambiente, cuando ésta sea necesaria para asegurar la inocuidad del alimento, Se debe disponer de instalaciones sanitarias separadas de las áreas de producción y dotadas de los elementos necesarios para la limpieza e higiene personal (jabón, papel higiénico, toallas desechables o secador de manos). (60)

#### Servicios de planta - facilidades

- Suministro de Agua.

Se dispondrá de un abastecimiento y sistema de distribución adecuado de agua potable así como de instalaciones apropiadas para su almacenamiento, distribución y control; el suministro de agua dispondrá de mecanismos para garantizar la temperatura y presión requeridas en el proceso, la limpieza y desinfección efectiva; se permitirá el uso de agua no potable para aplicaciones como control de incendios, generación de vapor, refrigeración; y otros propósitos similares, y en el proceso, siempre y cuando no sea ingrediente ni contamine el alimento; y los sistemas de agua no potable deben estar identificados y no deben estar conectados con los sistemas de agua potable.

- Suministro de Vapor.

- Disposición de Desechos Líquidos: Las plantas procesadoras de alimentos deben tener, individual o colectivamente, instalaciones o sistemas adecuados para la disposición final de aguas negras y efluentes industriales
- Disposición de Desechos Sólidos: Se debe contar con un sistema adecuado de recolección, almacenamiento, protección y eliminación de basuras. Esto incluye el uso de recipientes con tapa y con la debida identificación para los desechos de sustancias tóxicas; donde sea necesario, se deben tener sistemas de seguridad para evitar contaminaciones accidentales o intencionales. (60)

### **1.15.1.2 Equipos y utensilios**

- La selección, fabricación e instalación de los equipos deben ser acorde a las operaciones a realizar y al tipo de alimento a producir. El equipo comprende las máquinas utilizadas para la fabricación, llenado o envasado, acondicionamiento, almacenamiento, control, emisión y transporte de materias primas y alimentos terminados.

Construidos con materiales tales que sus superficies de contacto no transmitan sustancias tóxicas, olores ni sabores, ni reaccionen con los ingredientes o materiales que intervengan en el proceso de fabricación, Debe evitarse el uso de madera y otros materiales que no puedan limpiarse y desinfectarse adecuadamente.

Todo el equipo y utensilios que puedan entrar en contacto con los alimentos deben ser de materiales que resistan la corrosión y las repetidas operaciones de limpieza y desinfección.

Monitoreo de los equipos: Condiciones de instalación y funcionamiento.

La instalación de los equipos debe realizarse de acuerdo a las recomendaciones del fabricante. Toda maquinaria o equipo debe estar provista de la instrumentación adecuada y demás implementos necesarios para su operación, control y mantenimiento. Se contará

con un sistema de calibración que permita asegurar que, tanto los equipos y maquinarias como los instrumentos de control proporcionen lecturas confiables. (60)

### **1.15.1.3 Requisitos Higiénicos de Fabricación - Personal**

- Consideraciones generales: Durante la fabricación de alimentos, el personal manipulador que entra en contacto directo o indirecto con los alimentos debe:

Estar capacitado para su trabajo y asumir la responsabilidad de participar directa e indirectamente en la fabricación de un producto, y sobre la base de Buenas Prácticas de Manufactura, a fin de asegurar su adaptación a las tareas asignadas. La empresa debe contar con programas de entrenamiento específicos, que incluyan normas, procedimientos y precauciones a tomar, para el personal que labore dentro de las diferentes áreas.

Estado de salud: El personal manipulador de alimentos debe someterse a un reconocimiento médico antes de desempeñar esta función. Así mismo, debe realizarse un reconocimiento médico cada vez que se considere necesario.

Higiene y medidas de protección: el personal que trabaja en una Planta Procesadora de Alimentos debe cumplir con normas escritas de limpieza e higiene: uniformes adecuados a las operaciones a realizar (delantales otros accesorios como guantes, botas, gorros, mascarillas, limpios y en buen estado; y el calzado debe ser cerrado y cuando se requiera, deberá ser antideslizante e impermeable, lavables o desechables; lavarse las manos con agua y jabón antes de comenzar el trabajo, cada vez que salga y regrese al área asignada, cada vez que use los servicios sanitarios y después de manipular cualquier material u objeto que pudiese representar un riesgo de contaminación para el alimento. El uso de guantes no exime al personal de la obligación de lavarse las manos.

Debe mantener el cabello cubierto totalmente mediante malla, gorro u otro medio efectivo para ello; debe tener uñas cortas y sin esmalte; no deberá portar joyas o

bisutería; debe laborar sin maquillaje, así como barba y bigotes al descubierto durante la jornada de trabajo debe usar protector de boca.

Comportamiento del personal: El personal que labora en las áreas de proceso, envase, empaque y almacenamiento debe acatar las normas establecidas que señalan la prohibición de fumar y consumir alimentos o bebidas en estas áreas.

#### **1.15.1.4 Materias Primas e Insumos**

- No se aceptarán materias primas e ingredientes que contengan parásitos, microorganismos patógenos, sustancias tóxicas (tales como, metales pesados, drogas veterinarias, pesticidas), ni materias primas en estado de descomposición o extrañas.
- Las materias primas e insumos deben someterse a inspección y control antes de ser utilizados en la línea de fabricación.
- La recepción de materias primas e insumos debe realizarse en condiciones de manera que eviten su contaminación, alteración de su composición y daños físicos. Las zonas de recepción y almacenamiento estarán separadas de las que se destinan a elaboración o envasado de producto final.
- Las materias primas e insumos deberán almacenarse en condiciones que impidan el deterioro, eviten la contaminación y reduzcan al mínimo su daño o alteración.
- Los recipientes, contenedores, envases o empaques de las materias primas e insumos deben ser de materiales no susceptibles al deterioro o que desprendan sustancias que causen alteraciones o contaminaciones.
- Los insumos utilizados como aditivos alimentarios en el producto final, no rebasarán los límites establecidos en base a los límites establecidos en el Codex Alimentario, o normativa internacional equivalente o normativa nacional.
- Agua: Como materia prima: Sólo se podrá utilizar agua potabilizada de acuerdo a normas nacionales o internacionales; y el hielo debe fabricarse con agua potabilizada, o tratada de acuerdo a normas nacionales o internacionales.

- Para los equipos: El agua utilizada para la limpieza y lavado de materia prima, o equipos y objetos que entran en contacto directo con el alimento debe ser potabilizada o tratada de acuerdo a normas nacionales o internacionales; y el agua que ha sido recuperada de la elaboración de alimentos por procesos como evaporación o desecación y otros pueden ser reutilizada, siempre y cuando no se contamine en el proceso de recuperación y se demuestre su aptitud de uso.(60)

#### **1.15.1.5 Operaciones de Producción**

- La organización de la producción debe ser concebida de tal manera que el alimento fabricado cumpla con las normas establecidas en las especificaciones correspondientes; que el conjunto de técnicas y procedimientos previstos, se apliquen correctamente y que se evite toda omisión, contaminación, error o confusión en el transcurso de las diversas operaciones.
- La elaboración de un alimento debe efectuarse según procedimientos validados, en locales apropiados, con áreas y equipos limpios y adecuados, con personal competente, con materias primas y materiales conforme a las especificaciones.
- Las cubiertas de las mesas de trabajo deben ser lisas, con bordes redondeados, de material impermeable, inalterable e inoxidable, de tal manera que permita su fácil limpieza.
- Antes de emprender la fabricación de un lote debe verificarse que:  
Se haya realizado convenientemente la limpieza del área según procedimientos establecidos, que cumplan las condiciones ambientales tales como temperatura, humedad, ventilación, los aparatos de control estén en buen estado de funcionamiento  
En todo momento de la fabricación el nombre del alimento, número de lote, y la fecha de elaboración, deben ser identificadas por medio de etiquetas o cualquier otro medio de identificación, proteger el alimento de la contaminación por metales u otros materiales extraños, instalando mallas, trampas, imanes, detectores de metal o cualquier otro método apropiado.

El llenado o envasado de un producto debe efectuarse rápidamente, a fin de evitar deterioros o contaminaciones que afecten su calidad.

#### **1.15.1.6 Envasado, etiquetado y empaquetado**

- Todos los alimentos deben ser envasados, etiquetados y empaquetados de conformidad con las normas técnicas y reglamentación respectiva.
- El diseño y los materiales de envasado deben ofrecer una protección adecuada de los alimentos para reducir al mínimo la contaminación. Cuando se utilizan materiales o gases para el envasado, éstos no deben ser tóxicos ni representar una amenaza para la inocuidad y la aptitud de los alimentos en las condiciones de almacenamiento y uso, especificadas.
- En caso de que las características de los envases permitan su reutilización, será indispensable lavarlos y esterilizarlos de manera que se restablezcan las características originales.
- Los tanques o depósitos para el transporte de alimentos al granel serán diseñados y construidos de acuerdo con las normas técnicas respectivas, tendrán una superficie que no favorezca la acumulación de suciedad y den origen a fermentaciones, descomposiciones o cambios en el producto.
- Los alimentos envasados y los empaquetados deben llevar una identificación codificada que permita conocer el número de lote, la fecha de producción y la identificación del fabricante a más de las informaciones adicionales que correspondan, según la norma técnica de rotulado.
- Los alimentos en sus envases finales, en espera del etiquetado, deben estar separados e identificados convenientemente.
- El personal debe ser particularmente entrenado sobre los riesgos de errores inherentes a las operaciones de empaque. (60)

#### **1.15.1.7 Almacenamiento, Distribución, Transporte y Comercialización**

- Los almacenes o bodegas para almacenar los alimentos terminados deben mantenerse en condiciones higiénicas y ambientales apropiadas para evitar la descomposición o contaminación posterior de los alimentos envasados y empaquetados.
- Para la colocación de los alimentos deben utilizarse estantes o tarimas ubicadas a una altura que evite el contacto directo con el piso.
- Para aquellos alimentos que por su naturaleza requieren de refrigeración o congelación, su almacenamiento se debe realizar de acuerdo a las condiciones de temperatura humedad y circulación de aire que necesita cada alimento.
- El transporte de alimentos debe cumplir con las siguientes condiciones:
  1. Los alimentos y materias primas deben ser transportados manteniendo las condiciones higiénico - sanitarias y de temperatura establecidas para garantizar la conservación de la calidad del producto.
  2. Los vehículos destinados al transporte serán adecuados a la naturaleza del alimento y construidos con materiales apropiados
  3. No se permite transportar alimentos junto con sustancias consideradas tóxicas.
- La comercialización o expendio de alimentos deberá realizarse en condiciones que garanticen la conservación y protección de los mismos, para ello:

#### **1.15.1.8 Garantía de Calidad - Aseguramiento y Control de calidad**

- Todas las operaciones de fabricación, procesamiento, envasado, almacenamiento y distribución de los alimentos deben estar sujetas a los controles de calidad apropiados. Los procedimientos de control deben prevenir los defectos evitables y reducir los defectos naturales o inevitables a niveles tales que no represente riesgo para la salud..
- Todas las fábricas de alimentos deben contar con un sistema de control y aseguramiento de la inocuidad, el cual debe ser esencialmente preventivo y cubrir

todas las etapas de procesamiento del alimento, desde la recepción de materias primas e insumos hasta la distribución de alimentos terminados.

- El sistema de aseguramiento de la calidad debe, como mínimo, considerar los siguientes aspectos: especificaciones sobre las materias primas y alimentos terminados, documentación sobre la planta, equipos y procesos, manuales e instructivos, actas y regulaciones donde se describan los detalles esenciales de equipos, procesos y procedimientos requeridos para fabricar alimentos, planes de muestreo, los procedimientos de laboratorio, especificaciones y métodos de ensayo deberán ser reconocidos oficialmente o normados, con el fin de garantizar o asegurar que los resultados sean confiables.
- En caso de adoptarse el Sistema HACCP, para asegurar la inocuidad de los alimentos, la empresa deberá implantarlo, aplicando las BPM como requisito.
- Todas las fábricas que procesen, elaboren o envasen alimentos, deben disponer de un laboratorio de pruebas y ensayos de control de calidad el cual puede ser propio o externo acreditado.
- Se llevará un registro individual escrito correspondiente a la limpieza, calibración y mantenimiento preventivo de cada equipo o instrumento.
- Los planes de saneamiento deben incluir un sistema de control de plagas, entendidas como insectos, roedores, aves y otras que deberán ser objeto de un programa de control específico.

En el Registro oficial No.839 del Martes 27 de Noviembre del 2012 El Comité Interministerial de La Calidad del Ecuador Resuelve: “EMITIR LA POLÍTICA DE PLAZOS DE CUMPLIMIENTO DE BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA PARA PLANTAS PROCESADORAS DE ALIMENTOS.” (61)

Cuyo objetivo es establecer la política de plazos de cumplimiento de Buenas Prácticas de Manufactura para Alimentos Procesados expedido mediante Decreto Ejecutivo 3253, publicado en el Registro Oficial 696 de fecha 04 de noviembre del 2002, para los establecimientos donde se realicen actividades de: fabricación, procesamiento, preparación, envasado, empaquetado, almacenamiento, transporte, distribución y comercialización de alimentos.(61)

Establece plazos conforme al riesgo inherente al producto alimentario procesado, a la participación del sector industrial por actividad principal y a la categorización, los siguientes tipos de riesgo y plazos de cumplimiento, siendo la elaboración de lácteos Riego Tipo A ya que por su naturaleza, composición, proceso, manipulación y población a la que va dirigida, tienen una alta probabilidad de causar daño a la salud. Dando como plazo para la pequeña industria y microempresa 2 años a partir de la fecha de la resolución. (61)

Para la ejecución y cumplimiento de la resolución el Ministerio de Salud Pública deberá:

- Actualizar la base de datos de los establecimientos procesadores de alimentos.
- Socializar el proceso de obtención del Certificado de Operación y los plazos de cumplimiento establecidos a los sectores involucrados.
- Emitir el certificado de operación y realizar postverificación de conformidad con el Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura para establecimientos procesadores de alimentos y del Instructivo para las inspecciones con fines de certificación.
- Aplicar las sanciones respectivas por el incumplimiento a través de las autoridades operativas de salud competentes.(61)

El Ministerio de Industrias y Productividad, a través de la Subsecretaria de Calidad debe:

- Socializar el Reglamento de Buenas Prácticas para alimentos procesados, vigente
- Realizar diagnóstico inicial y asesoramiento a los establecimientos procesadores de alimentos a través de los gestores de calidad.
- Promover el incremento de organismos de inspección acreditados.(61)

Y a través de la Subsecretaría de MIPYMES realizará, las siguientes actividades:

- Proponer medios de cofinanciamiento para la implementación de buenas práctica de manufactura para los establecimientos procesadores de alimentos.
- Coordinar líneas de crédito a través de la Corporación Financiera Nacional para mejorar la infraestructura de los establecimientos procesadores de alimentos con el fin de dar cumplimiento al Reglamento de Buenas Prácticas de Alimentos Procesados. (61)

Y se establece una disposición general que una vez cumplidos los plazos previstos se otorgará el Certificado de Operación el cuál sustituirá al permiso de funcionamiento anual y los encargados de difundir esta información serán: Ministerio de Salud Pública, Ministerio de Industrias y Productividad y el Ministerio Coordinador de la Producción Empleo y Competitividad. (61)

## **CAPÍTULO II**

### **2. PARTE EXPERIMENTAL**

#### **2.1 LUGAR DE INVESTIGACIÓN**

Queseras de tipo artesanal ubicadas las parroquias rurales del cantón Riobamba: Licto, Pungalá, Quimiag, y San Juan y que el producto sea comercializados en la ciudad de Riobamba

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Investigación Microbiológica y en el Laboratorio de Alimentos de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

#### **2.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS**

##### **2.2.1 MATERIA PRIMA**

Quesos frescos producidos por los productores de seis queseras de las parroquias rurales del cantón Riobamba y comercializados en la misma. (Anexo 6)

- Queso fresco de Crema San Diego
- Queso fresco San Jorge
- Queso Pasteurizado de Mesa El Licteñito
- Queso fresco de crema Velasteguí
- Queso fresco Pasteurizado Natural Daniela
- Queso fresco Pasteurizado El Pajonal

### **2.2.2 EQUIPOS**

- Autoclave OMNI CLAVE Modelo OCM
- Balanza analítica
- Cámara Fotográfica LUMIX
- Computadora
- Cronómetro
- Desecador
- Estufa de Cultura Modelo 002CB
- Mufla
- pHmetro
- Refrigeradora ECASA Modelo VV-5126
- Tergohigrómetro

### **2.2.3 MATERIALES**

- Balones aforados 100mL, 250 mL, 500mL y 1000 mL.
- Bureta
- Cajas Petri plásticas
- Cápsulas de porcelana
- Coolers
- Crisoles
- Embudos de separación 100mL, 250 mL
- Espátula
- Friogeles (Refrigerante para vacunas y bacterinas)
- Gradillas
- Hisopos de madera
- Matraces Erlenmeyers
- Mechero de alcohol
- Papel aluminio
- Papel craft

- Papel filtro
- Piceta
- Pinza de bureta
- Pipeta automática
- Pipetas volumétricas 1mL,5mL y 10 mL
- Probeta graduada
- Puntas descartables de 1000  $\mu$ L
- Reverbero
- Soporte Universal
- Tapas para tubos de ensayo
- Termómetro
- Tubos de ensayo
- Varilla de vidrio
- Vasos de precipitación 100mL, 250 mL, 500mL y 1000 mL.

#### **2.2.4 REACTIVOS**

- Acido Clorhídrico
- Agua destilada
- Alcohol al 96%
- Éter dietílico
- Fenolftaleína
- Hidróxido de Sodio 0,1N

#### **MEDIOS DE CULTIVO**

- Agar Baird Parker: (Telurito de potasio- Emulsión de Huevo)
- Agar Cristal Violeta – Bilis – Glucosa (VRBG)
- Agar Cristal Violeta - Bilis – Lactosa (VRB)
- Peptona

## 2.3 MÉTODOS

### 2.3.1 REALIZACIÓN DE ENCUESTAS

Para determinar las formas de almacenamiento de los quesos frescos elaborados artesanalmente se realizó una encuesta (Anexo 2) a los consumidores (fórmula No 1) en los sitios de expendio en los siguientes mercados de la ciudad: la Condamine, Santa Rosa, la Merced, San Alfonso, Mayorista y la Esperanza (Anexo 4)

$$n = \frac{N}{1 + \frac{e^2(N-1)}{z^2pq}}$$

**Donde:**

n = tamaño de la muestra que deseamos conocer,

N = tamaño conocido de la población,

Z = Valor de z correspondiente al nivel de confianza

p = Probabilidad de éxito

q = Probabilidad de fracaso

e = error tolerado al extrapolar de la muestra a la población

### 2.3.2 TOMA DE MUESTRAS

Identificadas por Castillo, G. (2013) las queseras artesanales de las parroquias rurales de Riobamba, en base a volumen de producción, porcentaje de cumplimiento de las BPM y el lugar de comercialización. (Anexo 1)

En las queseras seleccionadas se realizó la toma de la muestra con la presencia del personal técnico del Departamento de Control y Vigilancia Sanitaria de la Coordinación Zonal de Salud 3, de acuerdo al cronograma descrito en la Cuadro No 1; seleccionándose

el último lote de producción e identificando tres muestras de queso fresco con stickers codificados que facilitaron el seguimiento de la cadena de producción.

En el sitio de expendio público se adquirieron las muestras que tenían la identificación correspondiente; registrándose la temperatura y la humedad relativa del ambiente y colocándose en fundas estériles y en coolers (5°C por contener Friogeles) para ser trasladadas al laboratorio de la ESPOCH para su análisis. (Anexo 5)

**CUADRO No. 1 CRONOGRAMA DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS**

| PARROQUIAS | QUESERAS | IDENTIFICACION | RECOLECCIÓN | # de días entre la Producción-Comercialización |
|------------|----------|----------------|-------------|--|
| SAN JUAN   | Q1       | 8 de Marzo     | 8 de Marzo  | 0  |
|            | Q2       |                | 11 de Marzo | 3  |
| LICTO      | Q3       | 11 de Marzo    | 11 de Marzo | 0  |
| PUNGALA    | Q4       |                | 13 de Marzo | 2  |
| QUIMIAG    | Q5       | 15 de Marzo    | 15 de Marzo | 0  |
|            | Q6       |                | 15 de Marzo | 0  |

Fuente: ESTRELLA, G. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. 2013

### 2.3.3 ANALISIS SENSORIAL, FISICO, QUIMICO Y MICROBIOLOGICO

Las muestras recolectadas se las dividió en 5 partes, colocándolos en fundas ziploc, de las cuales 3 se las almaceno a temperatura ambiente (20 °C) por 3,5 y 7 días: las dos restantes se las puso en refrigeración por 7 y 14 días, para analizar el comportamiento del queso durante el almacenamiento en los dos ambientes mediante el análisis sensorial, físico, químico y microbiológico. (Anexo 7)

### 2.3.4 ANÁLISIS SENSORIAL DE QUESO FRESCO

Para la determinación del análisis sensorial se seleccionaron como indicadores: color, textura y olor

**Principio:** El análisis sensorial de un queso fresco consiste en examinarlo mediante nuestros sentidos con el objeto de captar y valorar los caracteres que se perciben a través de ellos.

### **Preparación de la muestra**

**Olor:** Romper un pedazo de queso en dos por el centro.

**Textura:** La textura es realizada usando pequeñas piezas de queso obtenidas por corte o de una muestra del centro del queso.

### **Procedimiento:**

#### **Olor**

Según Alimentación org de la República de Argentina para evaluar el olor acercar la muestra de queso a la nariz, con el fin de poder percibir a través de la vía nasal directa los olores que caracterizan al queso, intentando reconocer los olores dominantes al aspirar inmediatamente la fuerza del estímulo percibido se identifica la intensidad del olor.

Se han definido ocho familias de términos para describir los olores y son:

- Lácticos (leche fresca, acidificada, corteza de queso)
- Vegetales (hierba, verdura cocida, ajo, cebolla, madera).
- Florales (miel, rosa).
- Afrutados (avellana, nuez, cítricos, plátano, piña, manzana, aceites).
- Torrefactos (bizcocho, vainilla, caramelo, tostado (análisis sensorial de quesos))

#### **Textura**

A las pequeñas piezas de queso se las dobla, presiona y se frota la muestra entre los dedos índice y pulgar

Se evalúa la dureza del queso sea, la fuerza requerida para deformarlo estamos evaluando si es blando, firme o duro y en los quesos lo que se mide es la firmeza

### **Aspecto**

Mediante el sentido de la vista se percibe determinadas características sensoriales en su aspecto:

El **color de la corteza** puede:

- Blanco, característico de los quesos frescos
- Blanco cremoso
- Ligeramente amarillento
- Amarillento

## 2.3.5 ANÁLISIS FÍSICO DE MUESTRAS DE QUESO FRESCO

### **2.3.5.1 Determinación de la concentración del ión Hidrógeno (pH) NTE INEN 389**

**Principio:** El método a que esta Norma se refiere, se basa en la medición electrométrica de la actividad de los iones hidrógeno presentes en una muestra del producto mediante un aparato medidor de pH (potenciómetro).

#### **Preparación de la muestra**

- Homogenizarla con ayuda de una pequeña cantidad de agua (recientemente hervida y enfriada y mediante agitación)

#### **Procedimiento**

- Colocar en un vaso de precipitación aproximadamente 10g de la muestra preparada, añadir 100mL de agua destilada (recientemente hervida y enfriada) y agitar suavemente.
- Si existen partículas en suspensión, dejar en reposo el recipiente para que el líquido se decante.

- Determinar el pH introduciendo los electrodos del potenciómetro en el vaso de precipitación con la muestra, cuidando que éstos no toquen las paredes del recipiente ni las partículas sólidas, en caso de que existan.

## **2.3.6 ANÁLISIS QUÍMICO DE MUESTRAS DE QUESO FRESCO**

### **2.3.6.1 Determinación del contenido de Humedad (Método de desecación en estufa de aire caliente) NTE INEN 63**

**Principio:** El método para determinar la cantidad de agua presente en la muestra se basa en la determinación gravimétrica de la pérdida de masa, de la muestra desecada hasta masa constante en estufa de aire caliente refiriendo su peso al peso total de la muestra y expresada como porcentaje.

#### **Preparación de la muestra**

Cortar la muestra en trozos de forma aproximadamente cúbica con 3mm a 5 mm de lado y mezclar los trozos obtenidos.

#### **Procedimiento:**

- La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada
- Colocar la cápsula de porcelana durante una hora en la estufa a  $103^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$  y pesarlo con aproximación a mg.
- Transferir rápidamente a la cápsula aproximadamente 3 g de muestra y pesar nuevamente con aproximación a mg.
- Colocar el conjunto en la estufa a  $103^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$  y mantenerlo allí durante 3 horas.
- Enfriar en el desecador y pesarlo con aproximación a mg. Repetir el calentamiento por periodos de 30 min, enfriando y pesando hasta que la diferencia entre dos pesadas consecutivas no sea mayor de 2 mg.

- Si la muestra presenta el aspecto de una masa pastosa a  $103^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ , mantener en el desecador durante 16 h, a temperatura ambiente, y pesarlo con aproximación a mg luego de tal periodo de tiempo.

### **CÁLCULO:**

El contenido de humedad en el queso se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$H = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} \times 100$$

### **DONDE:**

H = Contenido de humedad, en porcentaje de masa

m = masa de la cápsula

$m_1$  = masa de la cápsula con muestra en g.

$m_2$  = masa de la cápsula con residuo seco en g.

### **2.3.6.2 Determinación de la Acidez NTE INEN 13**

**Fundamento:** El contenido total de ácidos en un alimento lo determina la acidez valorable total, la que se expresa en función del ácido representativo que es el láctico, la acidez se establece en un peso de muestra llevada a un volumen conocido, se titula una alícuota con base estandarizada hasta el viraje determinado por cambio de color del indicador.

### **Preparación de la muestra**

- Se toman 10 gramos de queso fresco finamente molidos. Se coloca 100mL de agua destilada a  $40^{\circ}\text{C}$ . La mezcla se agito vigorosamente. Se filtró la solución. Con una pipeta se tomaron 50 ml del filtrado. Esta cantidad corresponde a 5 g de la muestra.

## Procedimiento

- La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra
- Lavar cuidadosamente y secar el matraz Erlenmeyer en la estufa a  $103\pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 30 min. Dejar enfriar en el desecador y pesar con aproximación al 0,1 mg.
- Invertir, lentamente, tres o cuatro veces, la botella que contiene la muestra preparada; inmediatamente, transferir al matraz Erlenmeyer y pesar con aproximación al 0,1mg , aproximación de 20 g de muestra.
- Diluir el contenido del matraz con un volumen dos veces mayor de agua destilada, y agregar 2 cm<sup>3</sup> de solución indicadora de fenolftaleína.
- Agregar, lentamente y con agitación, la solución 0,1 N de hidróxido de sodio, justamente hasta conseguir un color rosado persistente que desaparece lentamente.
- Continuar agregando la solución hasta que el color rosado persista durante 30 s.
- Leer en la bureta el volumen de solución empelada, con aproximación a 0,05 cm<sup>3</sup>.

## CÁLCULOS

La acidez se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$A = 0,090 \frac{V \times N}{m} \times 100$$

Donde:

A = Acidez titulable de la leche, en porcentaje de ácido láctico

V = Volumen de la solución de hidróxido de sodio empleado en la titulación en cm<sup>3</sup>

N = Normalidad de la solución de hidróxido de sodio

m = peso de la muestra en gramos

## 2.3.6 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE MUESTRAS

### 2.3.6.1 Determinación de *Staphylococcus aureus* Método Recuento en Placa de Siembra por Extensión en Superficie. NTE 1529: 14-98

- **Agar Baird Parker**

**Principio:** En el medio de cultivo preparado y completo la peptona y el extracto de carne constituyen la fuente de carbono y nitrógeno, el extracto de levadura aporta vitaminas del complejo B, la glicina y el piruvato estimulan el crecimiento de los estafilococos.

Este medio de cultivo es selectivo y diferencial debido al telurito de potasio y al cloruro de litio, los cuales inhiben el desarrollo de la flora acompañante. La yema de huevo permite demostrar la actividad lecitinásica.

Los estafilococos coagulasa positiva reducen el telurito a telurio y originan colonias de color grisáceo-negro, y dan reacción sobre la yema de huevo produciendo alrededor de la colonia una zona opaca que a menudo tiene una zona clara más externa.

#### **Preparación de Suplementos**

- **Solución de Telurito de potasio**

#### **Composición**

|                   |          |
|-------------------|----------|
| Telurito potásico | 3,0 g    |
| Agua destilada    | 100,0 mL |

Con un mínimo de calentamiento, disolver el telurito potásico en agua y esterilizar por filtración. La solución puede mantenerse en refrigeración entre 0 y 5°C durante varios meses.

- **Preparación de la Emulsión de yema de huevo**

### **Composición**

Yema de huevo

Agua destilada estéril

Utilizar huevos frescos de gallina, con cáscara intacta y libre de antibióticos. Limpiar con cepillo, jabón y agua ligeramente tibia, sumergir en etanol al 70% (v/v) y dejarlo una hora, sacar la yema pesarla en un Erlenmeyer y multiplicarla por cuatro, y es la cantidad de agua estéril que se debe agregar.

### **Preparación del Medio Base**

#### **Composición**

|                   |          |
|-------------------|----------|
| Agar Baird Parker | 63,0 g   |
| Agua destilada    | 954,0 mL |

**Preparación:** Pesar 63 g y agregar 950mL de agua destilada, calentar ligeramente hasta que se disuelva el Agar, llevar a esterilizar a 121°C. A 954mL del medio fundido agregar la solución estéril de telurito de potasio y la emulsión de yema de huevo Inmediatamente distribuir en placas Petri estériles y dejar solidificar, el medio debe estar densamente opaco y las placas claras no se utilizan.

#### **Procedimiento**

- Pesar en un recipiente estéril 25 gramos del producto (queso fresco) y colocar 225mL de diluyente (agua de peptona), homogenizar.
- A partir del homogenizado preparar diluciones sucesivas del orden 10 según convenga al caso.

- Inocular volúmenes de 100  $\mu\text{L}$  a las placas Petri, y diseminar el inóculo, uniformemente sobre la superficie del agar hasta que sea absorbido por el medio.
- Invertir las placas e incubar entre 35 y 37°C durante  $32 \pm 2$  horas
- Finalizado el periodo de incubación, contar las unidades formadoras de colonias en las placas elegidas para el recuento.
- Elegir placas de dos diluciones consecutivas que contengan 15 y 150 colonias típicas, si contienen más de 150 colonias contar en las placas con la menor cantidad de muestra.

LA FORMULA ES:

$$C = n * f$$

Donde:

C= Numero de UFC/g

n=es las colonias contadas

f = factor de dilución

#### **2.3.6.2 Determinación de Enterobacterias Totales por Siembra en Placa**

- **Agar VRBG**

**Principio:** El medio contiene cristal violeta y sales biliares que inhiben el crecimiento de la flora acompañante gram positiva, la presencia del rojo neutro permite que se forme un halo violeta al borde de las colonias debido a la acidificación de la glucosa y precipitación de las sales biliares. Las colonias de enterobacterias adquieren en este medio coloración violácea.

**Procedimiento:**

- Pesar en un recipiente estéril 25 gramos del producto (queso fresco) y colocar 225mL de diluyente (agua de peptona), homogenizar.

- A partir del homogenizado preparar diluciones sucesivas del orden 10 según convenga al caso.
- Sembrar en profundidad 1mL de las diluciones seleccionadas adicionando una segunda capa de Agar.
- Agregar el Agar fundido VRBG recientemente preparado y temperado a  $45 \pm 2$  °C. La adición del medio de cultivo no debe pasar más de quince minutos a partir de la preparación de la primera dilución.
- Delicadamente mezclar el inóculo de siembra con el medio de cultivo imprimiendo a la placa movimientos de vaivén, cinco veces en una dirección; hacerla girar en sentido de las agujas del reloj cinco veces. Repetir este proceso pero en sentido contrario.
- Dejar reposar las placas para que solidifique el agar, luego verter en la superficie una capa sellante.
- Dejar solidificar, invertir las cajas e incubar a 35°C, durante 24-48 horas.

Pasado el tiempo de incubación, seleccionar las placas que presenten 30-300 colonias. Colonias de color rojo violeta (similares a rosado) con zona de precipitación púrpura (violeta).

**LA FORMULA ES:**

$$C = n * f$$

Donde:

C= Numero de UFC/g

n=es las colonias contadas

f = factor de dilución

### 2.3.6.3 Determinación de Coliformes Método Recuento Directo en Placa de Agar

- **Agar VRB**

**Principio:** La presencia simultánea de violeta cristal y sales biliares asegura la inhibición del crecimiento de las bacterias Gram-positivas. A su vez la fermentación de la lactosa da lugar por un lado a la formación de ácido, que hace virar a rojo el indicador, y por otro a la precipitación de las sales biliares alrededor de las colonias. Las colonias, presentan un color rojo púrpura y aparecen rodeadas por una franja rojiza

#### **Procedimiento:**

- Realizar las diluciones del alimento de acuerdo a las indicaciones dadas.
- Sembrar en profundidad 1mL de las diluciones seleccionadas.
- Agregar el Agar fundido V.R.B. recientemente preparado y temperado a  $45 \pm 2$  °C. La adición del medio de cultivo no debe pasar mas de quince minutos a partir de la preparación de la primera dilución.
- Delicadamente mezclar el inóculo de siembra con el medio de cultivo imprimiendo a la placa movimientos de vaivén, cinco veces en una dirección; hacerla girar en sentido de las agujas del reloj cinco veces. Repetir este proceso pero en sentido contrario.
- Dejar reposar las placas para que solidifique el agar, luego verter en la superficie una capa sellante.
- Dejar solidificar, invertir las cajas e incubar a 35°C, durante 24-48 horas.
- Pasado el tiempo de incubación, seleccionar las placas que presenten 30-150 colonias.
- Contar todas las colonias de 1-2 mm de diámetro (mínimo de 0,5 mm) de color rojo amoratado rodeadas por un halo rojizo.

**LA FORMULA ES:**

$$C = n * f$$

Donde:

C= Numero de UFC/g

n= es las colonias contadas

f = factor de dilución

## CAPÍTULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 ENCUESTAS SOBRE CONSUMO DE QUESO FRESCO ARTESANAL Y FORMAS DE ALMACENAMIENTO

En el cuadro No 2 se detallan los resultados de las encuestas sobre consumo de queso fresco artesanal y formas de almacenamiento. (Anexo 3)

**CUADRO No. 2 FORMA DE ALMACENAMIENTO Y TIEMPO DE DURACIÓN DEL QUESO**

| CONSUMO DE QUESO FRESCO ARTESANAL |               |                    |     |         |     |      |     |            |     |
|-----------------------------------|---------------|--------------------|-----|---------|-----|------|-----|------------|-----|
|                                   |               | TIEMPO DE DURACIÓN |     |         |     |      |     | Total      |     |
|                                   |               | 1 SEMANA           |     | 15 DIAS |     | OTRO |     |            |     |
| FORMA DE ALMACENAMIENTO           | AMBIENTE      | 18                 | 6%  | 5       | 2%  | 0    | 0%  | 23         | 8%  |
|                                   | REFRIGERACIÓN | 188                | 63% | 89      | 30% | 0    | 0%  | 277        | 92% |
|                                   |               | 206                | 69% | 94      | 31% | 0    | 0%  | <b>300</b> |     |
| CONSUMO DE QUESO FRESCO ARTESANAL |               | SI                 | 270 | 90%     | NO  | 30   | 10% |            |     |

Fuente: ESTRELLA, G. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. 2013

Las encuestas revelan que el queso fresco es consumido por un elevado porcentaje de la población (90%) y que las marcas preferidas corresponde al queso artesanal (Pajonal, Carlita, Valerita, Daniela, liliana, Oasis, Lliquin, Proalim, San Jorge, Ilapeñito, Prolac, Velastegui, San Diego); la mayoría de los hogares urbanos de las principales ciudades consumen regularmente este tipo de queso por su precio (\$ 2.00), esto concuerda con los resultados obtenidos por Pulso Ecuador (2005) que el 84,3% de los hogares urbanos de las principales 15 ciudades consumen regularmente queso, lo que representa algo más de un millón de familias; por tradición y precios el queso fresco tiene el mercado más dinámico.

Las formas de almacenamiento más frecuentes utilizadas por los consumidores son: temperatura ambiente (8%) y refrigeración (92%), que es la forma más adecuada para la conservación de derivados lácteos según manifiesta Chavarrías (2011), sobre que “el frío de la nevera ralentiza y retarda el crecimiento de microorganismos patógenos, pero no los detiene por completo. Las temperaturas de refrigeración, por tanto, inhibe durante unos días el crecimiento microbiano”. (108)

## **3.2 MONITOREO DE LA CALIDAD E INOCUIDAD DEL QUESO FRESCO ALMACENADO EN DOS AMBIENTES**

### **3.2.1 CONDICIONES AMBIENTALES**

En el cuadro No 3 y 4 se observa los resultados del monitoreo de la calidad e inocuidad del queso fresco almacenado en condiciones ambientales (21°C y 55% de humedad relativa) y en refrigeración.( 15°C y 44% de humedad relativa). (Anexo 8)

**CUADRO N° 3 RESULTADOS DEL MONITOREO DE LA CALIDAD E INOCUIDAD DEL QUESO FRESCO ALMACENADO EN CONDICIONES AMBIENTALES**

| AMBIENTE |        |       |          |    |    |   |        |       |          |    |    |        |        |       |          |       |    |         |        |       |          |   |   |   |
|----------|--------|-------|----------|----|----|---|--------|-------|----------|----|----|--------|--------|-------|----------|-------|----|---------|--------|-------|----------|---|---|---|
| QUESERAS | pH     | % H   | % Acidez | C  | T  | O | pH     | % H   | % Acidez | C  | T  | O      | pH     | % H   | % Acidez | C     | T  | O       | pH     | % H   | % Acidez | C | T | O |
|          | 0 días |       |          |    |    |   | 3 días |       |          |    |    |        | 5 días |       |          |       |    |         | 7 días |       |          |   |   |   |
| Q1       | 5,32   | 72,38 | 0,54     | BC | SB | C | 5,39   | 69,87 | 0,34     | BC | SB | Caract | 5,75   | 68,74 | 0,23     | Lig A | SB | Otros   | 5,92   | 61,98 | 0,14     | A | B | D |
| Q2*      | 4,56   | 76,94 | 0,69     | BC | SB | C | 4,59   | 71,45 | 0,60     | BC | SB | Caract | 5,15   | 68,35 | 0,53     | Lig A | B  | Otros   | 5,56   | 61,28 | 0,44     | A | B | D |
| Q3       | 4,97   | 66,23 | 0,59     | BC | SB | C | 4,87   | 64,45 | 0,49     | BC | SB | C. F   | 5,22   | 61,89 | 0,39     | Lig A | B  | D       | 5,45   | 59,66 | 0,32     | A | B | D |
| Q4*      | 5,00   | 75,78 | 0,48     | BC | SB | C | 5,12   | 71,56 | 0,42     | BC | SB | Caract | 5,23   | 67,78 | 0,32     | Lig A | B  | Carac F | 5,76   | 64,93 | 0,18     | A | B | D |
| Q5       | 5,45   | 63,33 | 0,45     | BC | SB | C | 5,43   | 61,12 | 0,39     | BC | SB | Caract | 5,98   | 59,43 | 0,28     | Lig A | B  | Otros   | 6,1    | 57,91 | 0,14     | A | B | D |
| Q6       | 4,94   | 62,69 | 0,63     | BC | SB | C | 5,07   | 60,23 | 0,56     | BC | SB | Caract | 5,61   | 59,76 | 0,46     | Lig A | B  | Acido   | 5,88   | 56,08 | 0,35     | A | B | D |

C = Color , T = Textura, O = Olor, B = Blanco, BC = Blanco Cremoso, Lig A= Ligeramente Amarillento, A= Amarillento, Carac = Característico, C. Fuerte = Característico Fuerte, D = Desagradable.  
 Q2\* y Q4\* analizados al 5 y 6to día de su elaboración  
 Fuente: ESTRELLA, G. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. 2013

**CUADRO N° 4 RESULTADOS DEL MONITOREO DE LA CALIDAD E INOCUIDAD DEL QUESO FRESCO ALMACENADO EN REFRIGERACIÓN**

| QUESERAS | REFRIGERACIÓN |       |          |    |    |        |         |       |          |       |     |
|----------|---------------|-------|----------|----|----|--------|---------|-------|----------|-------|-----|
|          | pH            | % H   | % Acidez | C  | T  | O      | pH      | % H   | % Acidez | C     | T O |
|          | 7 días        |       |          |    |    |        | 14 días |       |          |       |     |
| Q1       | 5,56          | 67,78 | 0,28     | BC | SB | Otros  | 6,08    | 63,05 | 0,16     | A     | B D |
| Q2*      | 5,12          | 68,12 | 0,49     | BC | SB | Caract | 5,92    | 63,46 | 0,32     | Lig A | B D |
| Q3       | 5,07          | 62,61 | 0,42     | BC | B  | D      | 5,98    | 59,93 | 0,28     | Lig A | B D |
| Q4*      | 5,08          | 70,22 | 0,35     | BC | SB | D      | 6,12    | 68,18 | 0,21     | A     | B D |
| Q5       | 5,61          | 62,79 | 0,32     | BC | SB | D      | 5,97    | 59,08 | 0,19     | Lig A | B D |
| Q6       | 5,16          | 61,37 | 0,39     | BC | SB | Otros  | 5,68    | 60,08 | 0,28     | Lig A | B D |

C = Color , T = Textura, O = Olor, BC = Blanco Cremoso, Lig A= Ligeramente Amarillento, A= Amarillento, Caract = Característico, D = Desagradable.  
 Q2\* y Q4\* analizados al 5to y 6to día de su elaboración  
 Fuente: ESTRELLA, G. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. 2013

El color, olor y textura de los quesos frescos procedentes de las queseras artesanales y adquiridas a nivel de expendio público van variando notablemente durante el almacenamiento al ambiente y refrigeración como respuesta de los cambios químicos que sufre los componentes del producto; en efecto el color de blanco cremoso se transforma en amarillento como resultado de la pérdida de humedad, esto concuerda con lo expuesto por ECK (1990), sobre que en variedades de queso sin protección, durante su almacenamiento pierde humedad siempre y de forma progresiva, hasta alcanzar el equilibrio de la aw de su superficie con la humedad relativa del ambiente. (16)

Es importante notar que las muestras de las queseras Q2 y Q4 tuvieron mayor tiempo en almacenamiento debido a que el número de días desde la elaboración hasta la toma de muestras en comercialización fueron de 2 y 3 días respectivamente, por tal motivo esto repercute en mayor impacto en sus productos tanto a nivel sensorial como fisicoquímico y microbiológico.

En tanto el Olor de agradable se torna desagradable, resultado de la degradación proteolítica causada por los microorganismos *Staphylococcus aureus*, Coliformes, Enterobacterias esto ratifica Ray, B., Bhuni, A (2010) al decir que son bacterias que pueden hidrolizar proteínas porque producen proteinasas extracelulares este grupo incluye especies de los géneros *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, Enterobacteriaceae (38); también concuerda por lo dicho por Fraizer (1985) sobre que las bacterias de la putrefacción son capaces de descomponer anaeróbicamente las proteínas y producir compuestos malolientes, como sulfhídrico, mercaptanos, aminas, indol y ácidos grasos. (17)

La Textura se pudo observar que fue de semiblando a blando con excepción de la quesera Q3 que presento hinchamiento por la producción de bacterias fermentativas produciendo CO<sub>2</sub> esto es explicado por Polychroniadou (2001), que dice que la presencia de gas en el queso, comúnmente conocido como hinchazón se puede deberse a la leche cruda contaminada por coliformes o por bacterias ácido butíricas, con consecuencia de fermentaciones indeseables. Algunos microorganismos producen H<sub>2</sub> y/o H<sub>2</sub>S, dando origen a agujeros de gas y desagradables sabores. (54)

Los valores de pH van tendiendo a la neutralidad lo que se refleja en los altos recuentos microbiológicos que ratifican lo expresado por Brito et al., (1995) sobre que un aumento del pH produce un incremento de la actividad proteolítica, a consecuencia del aumento de la actividad de los microorganismos y enzimas. (46)

Todas las muestras al no cumplir los requisitos sensoriales, físicos y químico de la norma con la cual se compara no están aptas para el consumo humano.

Comprando con las condiciones ambientales (7 días) los quesos en refrigeración demoran más tiempo (14 días) en degradarse; esto concuerda con lo que afirma Chavarrias (2011) sobre que el frío de la nevera ralentiza y retarda el crecimiento de microorganismos patógenos, pero no los detiene por completo. Las temperaturas de refrigeración, por tanto, inhiben durante unos días el crecimiento microbiano. (106)

### 3.3 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE MUESTRAS

Los recuentos microbianos de los quesos, fueron transformados a Log 10 para el análisis estadístico. Los resultados del análisis microbiológico (Cuadro No 5) se tabularon Independientemente por quesera y forma de almacenamiento, los datos del día cero fueron tomados de Castillo G (2013). (Anexo 9)

**CUADRO No 5. RESULTADO DEL NÚMERO DE BACTERIAS COLIFORMES ENCONTRADAS EN QUESOS FRESCOS ELABORADOS EN LAS PARROQUIAS RURALES DEL CANTÓN RIOBAMBA EN LOG UFC/g**

|     | COLIFORMES |                      |       |             |       |             |       |               |       |             |        |             |     |
|-----|------------|----------------------|-------|-------------|-------|-------------|-------|---------------|-------|-------------|--------|-------------|-----|
|     | %BPM       | TEMPERATURA AMBIENTE |       |             |       |             |       | REFRIGERACIÓN |       |             |        |             |     |
|     |            | DIA 0                | DIA 3 |             | DIA 5 |             | DIA 7 |               | DIA 7 |             | DIA 14 |             |     |
| Q1  | 34,6       | 4,47 ± 0,13          | a v   | 5,92 ± 0,01 | b u   | 6,98 ± 0,01 | c v   | 7,81 ± 0,03   | d v   | 6,09 ± 0,02 | b u    | 6,22 ± 0,01 | b U |
| Q2* | 14,1       | 4,60 ± 0,18          | a v   | 6,27 ± 0,07 | b v   | 7,11 ± 0,03 | d w   | 7,82 ± 0,01   | b y   | 6,14 ± 0,06 | b u    | 7,59 ± 0,01 | d Y |
| Q3  | 46,2       | 6,05 ± 0,08          | a v   | 7,12 ± 0,01 | c w   | 7,52 ± 0,01 | e x   | 7,83 ± 0,01   | f v   | 6,25 ± 0,05 | b u    | 7,25 ± 0,01 | d W |
| Q4* | 48,7       | 3,64 ± 0,52          | a u   | 7,42 ± 0,01 | b x   | 7,69 ± 0,01 | b z   | 7,81 ± 0,03   | b w   | 6,87 ± 0,02 | b w    | 7,39 ± 0,01 | b Z |
| Q5  | 75,8       | 4,19 ± 0,09          | a v   | 7,45 ± 0,01 | c x   | 7,84 ± 0    | d z   | 8,14 ± 0      | e w   | 7,26 ± 0,01 | b w    | 7,85 ± 0    | d Z |
| Q6  | 14,1       | 4,23 ± 0,10          | a v   | 6,03 ± 0,05 | b u   | 6,12 ± 0,07 | b u   | 6,58 ± 0,02   | d u   | 6,09 ± 0,1  | b u    | 6,34 ± 0,04 | c V |

Datos con letras a-f diferentes en la misma fila, presentan diferencia estadística significativa (p 0,05)  
 Datos con letras u-z diferentes en la misma columna presentan diferencias estadísticas significativas (p 0,05)  
 Q2\* y Q4\* analizados al 5to y 6to día de su elaboración  
 Fuente: ESTRELLA, G. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH, 2013

**CUADRO No. 6. RESULTADO DEL NÚMERO DE ENTEROBACTERIAS ENCONTRADAS EN QUESOS FRESCOS ELABORADOS EN LAS PARROQUIAS RURALES DEL CANTÓN RIOBAMBA EN LOG UFC/g**

| ENTEROBACTERIAS |                      |             |       |     |             |     |               |     |             |     |             |     |             |     |
|-----------------|----------------------|-------------|-------|-----|-------------|-----|---------------|-----|-------------|-----|-------------|-----|-------------|-----|
|                 | TEMPERATURA AMBIENTE |             |       |     |             |     | REFRIGERACIÓN |     |             |     |             |     |             |     |
| %BPM            | DIA 0                |             | DIA 3 |     | DIA 5       |     | DIA 7         |     | DIA 7       |     | DIA 14      |     |             |     |
| Q1              | 34,6                 | 3,66 ± 0,18 | a     | u v | 6,54 ± 0,01 | b v | 6,84 ± 0,01   | c v | 7,82 ± 0,02 | d w | 6,81 ± 0,03 | b w | 6,95 ± 0,01 | b w |
| Q2*             | 14,1                 | 5,92 ± 0,10 | a     | B   | 7,4 ± 0,01  | d y | 7,7 ± 0,01    | e x | 8,03 ± 0,01 | f x | 6,42 ± 0,05 | b v | 6,85 ± 0,03 | c v |
| Q3              | 46,2                 | 5,22 ± 0,02 | a     | V   | 6,79 ± 0,04 | c w | 7,2 ± 0,01    | e w | 7,31 ± 0,01 | f v | 6,38 ± 0,04 | b v | 7,08 ± 0,01 | d x |
| Q4*             | 48,7                 | 3,68 ± 0,64 | a     | U   | 7,04 ± 0,01 | b x | 7,31 ± 0,01   | b w | 7,82 ± 0,02 | b w | 6,76 ± 0,03 | b w | 7,42 ± 0,01 | b y |
| Q5              | 75,8                 | 6,08 ± 0,09 | a     | V   | 7,47 ± 0,01 | c y | 7,81 ± 0,01   | d x | 8,13 ± 0,01 | f y | 7,28 ± 0    | b x | 8 ± 0,01    | e z |
| Q6              | 14,1                 | 4,21 ± 0,11 | a     | V   | 5,93 ± 0,06 | b u | 6,17 ± 0,15   | c u | 6,56 ± 0,03 | d u | 5,82 ± 0,07 | b u | 6,25 ± 0,05 | c u |

Datos con letras a-f diferentes en la misma fila, presentan diferencia estadística significativa (p 0,05)

Datos con letras u-z diferentes en la misma columna presentan diferencias estadísticas significativas (p 0,05)

Q2\* y Q4\* analizados al 5to y 6to día de su elaboración

Fuente: ESTRELLA, G. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. 2013

- **COLIFORMES Y ENTEROBACTERIAS**

La NTE 1528:2012, para quesos frescos no especifica un valor para coliformes totales, por esto se revisó la norma Nicaragüense NTON 03 022 – 99 Norma de Quesos Frescos no Madurados y en la que el límite para coliformes totales es  $2,7 \log \text{UFC/cm}^3$ . Con base en ésta norma el 100% de los quesos elaborados por las seis queseras muestreadas en todos los días de almacenamiento y en los dos ambientes se encuentran fuera de los límites permitidos de carga microbiana.

Los valores al día 3 de Q2 y Q4 corresponden al análisis realizados cinco y seis días después de su elaboración por esta razón presenta recuentos mayores considerando su recuento inicial (cero), se debe considerar que los resultados muestran diferencias estadísticas significativas a  $p < 0,05$ , es decir no todas las queseras elaboran quesos con la misma carga microbiana y esta no se relaciona con el porcentaje de cumplimiento de BPM, en efecto en el caso de la quesera Q5 que tiene el 75,8% de cumplimiento, presenta los mayores recuentos por día y en los dos ambientes de almacenamiento analizados, esto puede deberse a la ausencia de los procedimientos operativos estandarizados de sanitización, que son prerrequisitos de las BPM. Aún en entre las queseras con menor porcentaje de cumplimiento (14,1–34,6%), existe diferencia estadística en los recuentos.

Todas las muestras al no cumplir los requisitos microbiológicos de la norma con la cual se compara no están aptas para el consumo humano, ratificando lo que expresa Fraizier (2002) sobre que “las coliformes son perjudiciales para los alimentos ya que su presencia se considera signo de contaminación por desperdicios cloacales y por tanto posiblemente por bacterias entéricas patógenas, su crecimiento inutiliza los alimentos”. (17)

Resultados similares de recuentos altos de bacterias en quesos no madurados fueron encontrados en estudios realizados en diferentes ciudades de Venezuela por Díaz y González (2001), en la investigación *Staphylococcus aureus* en queso blanco fresco y su relación con diferentes microorganismos indicadores de calidad sanitaria en Venezuela, señalaron que los quesos evaluados excedían el criterio microbiológico para Coliformes

Totales y Fecales en 97,22% y 98,61 %, respectivamente (49). Así también, Márquez y García (2007) señalaron recuentos de Coliformes Totales mayores a 8 log UFC/g en 44% de queso “telita” del estado Bolívar y en 64% de quesos de Guárico.(53)

En Saint Spirit Cuba se realizaron la investigación donde se indicó que el 21,6 % del total de muestras manifestaron niveles por encima de lo establecido en la norma de especificidad cubana la cual indica  $< 2,009 \log \text{ UFC/g}$  y el valor máximo en las muestras fue de 3,95 log UFC/g, lo que indica que el nivel de contaminación no es muy elevado, según Elner (2000), las bacterias coliformes se desarrollan en el queso blando debido a la rápida degradación proteica (se forma amoníaco) se neutraliza el ácido láctico y sube el pH rápidamente, además afirma que son un indicador de una falta de limpieza y desinfección de las instalaciones, corroborando los resultados obtenidos.

En la tabla N° 6, se observa los resultados de enterobacterias, comparándolos con el índice máximo permisible que indica la NTE INEN 1528:2012 para identificar nivel de buena calidad del producto el cual es de 2,30 log UFC /g, todas las muestras sobrepasan dicha cantidad indicando que el 100% de los quesos analizados está fuera del rango de esta norma. Los valores al día 3 de Q2 y Q4 corresponden al análisis realizados cinco y seis días después de su elaboración por esta razón presenta recuentos mayores considerando su recuento inicial (cero). Los resultados presentan diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,05$ ), se encontraron recuentos desde 3,66 log UFC/g hasta de 8,13 log UFC/g

Estos datos concuerdan con lo expresado en un artículo de la Universidad de Murcia, donde se indica que un tratamiento inadecuado y/o contaminación posterior al tratamiento, más frecuentemente a partir de materias primas, equipos sucios o manejo no higiénico, conlleva a una multiplicación microbiana que puede permitir el crecimiento de toda la serie de microorganismos patógenos y toxigénicos, es decir la mala calidad sanitaria en las que se elaboran los quesos frescos.

**CUADRO No 7. RESULTADO DEL NUMERO DE *Staphylococcus aureus* ENCONTRADOS EN QUESOS FRESCOS ELABORADOS EN LAS PARROQUIAS RURALES DEL CANTÓN RIOBAMBA EN LOG UFC/g**

| <i>Staphylococcus aureus</i> |                      |             |       |             |       |             |               |             |       |             |        |             |       |
|------------------------------|----------------------|-------------|-------|-------------|-------|-------------|---------------|-------------|-------|-------------|--------|-------------|-------|
|                              | TEMPERATURA AMBIENTE |             |       |             |       |             | REFRIGERACIÓN |             |       |             |        |             |       |
| %BPM                         | DIA 0                |             | DIA 3 |             | DIA 5 |             | DIA 7         |             | DIA 7 |             | DIA 14 |             |       |
| Q1                           | 34,6                 | 5,25 ± 0,17 | a v   | 6,36 ± 0,06 | b x   | 6,65 ± 0,04 | c d w         | 6,79 ± 0,03 | d w   | 6,34 ± 0,08 | b w    | 6,48 ± 0,03 | b c u |
| Q2*                          | 14,1                 | 5,13 ± 0,27 | a uv  | 6,59 ± 0,02 | c y   | 6,74 ± 0,02 | c d w         | 7,59 ± 0,01 | e x   | 5,9 ± 0,05  | b u    | 6,87 ± 0,01 | d v   |
| Q3                           | 46,2                 | 4,61 ± 0,25 | a u   | 5,66 ± 0,1  | b u   | 6,17 ± 0,03 | c v           | 6,79 ± 0,01 | d w   | 6,07 ± 0,02 | c v    | 7,37 ± 0,01 | e y   |
| Q4*                          | 48,7                 | 4,62 ± 0,42 | a uv  | 5,84 ± 0,06 | b v   | 6,26 ± 0,04 | d v           | 6,48 ± 0,03 | e u   | 6,08 ± 0,08 | c v    | 6,48 ± 0,03 | e u   |
| Q5                           | 75,8                 | 6,47 ± 0,05 | a x   | 6,88 ± 0,01 | b z   | 7,56 ± 0    | d x           | 7,9 ± 0     | e y   | 6,51 ± 0,03 | a x    | 6,96 ± 0,01 | c w   |
| Q6                           | 14,1                 | 6,11 ± 0,05 | a w   | 6,1 ± 0,04  | a w   | 6,01 ± 0,07 | a u           | 6,64 ± 0,02 | c v   | 6,32 ± 0,02 | b w    | 7,15 ± 0,01 | d x   |

Datos con letras a-f diferentes en las misma fila, presentan diferencia estadística significativa (p 0,05)

Datos con letras u-z diferentes en la misma columna presentan diferencias estadísticas significativas (p 0,05)

Q2\* y Q4\* analizados al 5to y 6to día de su elaboración

Fuente: ESTRELLA, G. F CULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. 2013

En el cuadro No 7. Se muestran los resultados de *Staphylococcus aureus* en log UFC/g. Según la norma NTE INEN 1528: 2012, el índice máximo permisible para indicar nivel aceptable de calidad es 102 UFC/g o 3 log UFC/g, con base en esto ninguna muestra cumplen con este requisito, los valores al día 3 de Q2 y Q4 corresponden al análisis realizados cinco y seis días después de su elaboración por esta razón presenta recuentos mayores considerando su recuento inicial (cero), existiendo diferencias estadísticas significativas entre los días de almacenamiento y forma de almacenamiento, como se indicó anteriormente se puede deber a que aún con un porcentaje mayor al 50% de cumplimiento no significa que siguen la norma ya que no ha sido implantada.

En la investigación realizada por Diaz-Rivero y Gonzalez (2001), señalan que la presencia de este microorganismo en queso debe interpretarse desde diferentes puntos de vista. Por un lado, se ha señalado la existencia de una relación directa entre el número de unidades formadoras de colonias por gramo o mililitro de producto y la probabilidad inminente de la presencia de algunas de sus enterotoxinas se considera como valor crítico 2,017 log UFC /g a partir del cual es posible detectarlas (49). Por esto es probable que los quesos analizados hayan presentado enterotoxinas.

Los valores obtenidos en este trabajo fueron mayores a los encontrados en Mérida Venezuela por parte de Díaz-Rivero y Gonzalez (2001) donde encontraron *S. aureus* en 50 ( 69,44%) de las 72 muestras estudiadas con un promedio en un rango de <2 a 6,7 log UFC/g. Luján y otros (2006), realizaron la evaluación de la presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales en tres distritos de Lima – Perú, en la cual se reportó que el 80 % de muestras estaban por encima del límite máximo permitido, además señalan que el alto grado de contaminación alcanzado por este alimento proveniente del contacto con la piel, boca y fosas nasales de quienes manipularon el alimento.(49)

Según Figueroa y otros (2002), los *S.aureus* se encuentran en la piel y mucosas de los humanos y estos pueden llegar a los alimentos de muchas fuentes, la presencia en los alimentos se asocia a una inadecuada manipulación o al empleo de materias primas contaminadas ya que este microorganismo es resistente, pudiendo sobrevivir a

condiciones ambientales adversas. Son relativamente tolerantes al calor, a la desecación y a los medios con elevadas concentraciones de sal, lo que correlaciona con la realidad de las queseras muestreadas donde se evidenció las condiciones antes descritas.(50)

## CAPÍTULO IV

### 4. CONCLUSIONES.

1. Se pudo establecer mediante encuesta a los consumidores las dos formas de almacenamiento del queso que son ambiente y refrigeración.
2. Se realizó el análisis sensorial, físico, químico y microbiológico de los quesos frescos elaborados en 6 queseras artesanales y los resultados obtenidos demostraron que están fuera de los límites establecidos en la NTE INEN 1528, NON y González (2010) y esto se debe a razones multifactoriales como falta de estandarización en el esquema tecnológico, manejo inadecuado en el transporte y almacenamiento, falta de controles en las condiciones de temperatura y tiempo de almacenamiento del queso fresco al igual que los recuentos de los microorganismos indicadores de este alimento.
3. Se efectuó el monitoreo de la calidad e inocuidad del queso fresco en dos ambientes: condiciones normales y refrigeración; estableciéndose que en el segundo la degradación ocurre más lentamente y en mayor tiempo.

## CAPÍTULO V

### 5. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda conservar el queso fresco máximo 8 días en refrigeración para su consumo
2. La implementación de Buenas Prácticas de Manejo e Higiene durante la producción y manejo de este producto es imprescindible para reducir el riesgo de intoxicaciones y contaminaciones microbianas.
3. Se recomienda la investigación, confirmación, caracterización bioquímica y molecular de la cepa de *Listeria monocytogenes* en queso fresco.
4. Se recomienda hacer estudios más detallados sobre los cambios fisicoquímicos que ocurren en el queso fresco durante su almacenamiento especialmente a lo referente a la actividad de agua y liberación de componentes volátiles resultantes de la degradación microbiana.
5. Se recomienda hacer la determinación de proteína en las diferentes formas de almacenamiento.

## CAPÍTULO VI

### 6. RESUMEN

Monitorear la calidad e inocuidad durante el almacenamiento de queso fresco elaborado artesanalmente en las parroquias rurales del catón Riobamba se realizó en los laboratorios de Bromatología y Investigación Microbiológica de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

Se aplicó un método deductivo-científico, para lo cual se utilizaron quesos frescos, se estableció dos condiciones: ambiente (3,5,7 días) y refrigeración (7 y 14 días), se realizó encuestas a los consumidores en los distintos mercados de la ciudad, posteriormente se efectuó el seguimiento de la cadena de producción desde su elaboración hasta la comercialización, se realizó el análisis bromatológico: características sensoriales, pH, humedad, acidez y el análisis microbiológico: Coliformes, Enterobacterias y *Staphylococcus aureus*, los materiales utilizados fueron medios de cultivo específicos (VRB, VRBG y Baird Parker).

En esta investigación se estableció que el 90% de la población consume queso fresco y lo conserva en dos formas: en condiciones ambientales y refrigeración. Los resultados del análisis bromatológico y microbiológico el 100% de los quesos elaborados por las seis queseras muestreadas en todos los días de almacenamiento y en los dos ambientes están fuera de los límites normativos.

Se concluye que la cadena de producción es deficiente ya que el queso muestra altos recuentos de bacterias, tornándose por lo tanto en no aptos para el consumo humano. Se recomienda que las queseras implementen Buenas Prácticas de Manejo e Higiene durante la producción del producto que es imprendisible para reducir el riesgo de intoxicaciones y contaminaciones microbianas para garantizar calidad e inocuidad hasta su comercialización.

## **SUMMARY**

The monitoring of quality and safety during the storage of fresh cheese made by hand in rural towns of Riobamba was carried in the Bromatology laboratories and Microbiological Research at Espoch School of Sciences

A scientific deductive method was applied by using fresh cheeses; there were two conditions: temperature (3,5,7 days) and refrigeration (7 y 14 days); surveys were carried out to consumers at different markets in the city; thereafter the monitoring of the production chain from its elaboration to the commercialization was effected; a bromatologic analysis was carried out; as well as sensorial characteristics, pH, humidity, acidity and microbiologic analysis: coliforms, enter bacteria, and *Staphylococcus aureus*, the materials used were means of specific culture (VRB, VRBG and Baird Parker).

In this investigation it was established that 90% of the population consume cheese and keeps it in two ways: environmental conditions and refrigeration. The results of the microbiologic and chemical composition analysis, 100% of cheeses made by the six sampled cheese factories everyday storage in the two environments and they are outside the regulatory limits.

It is concluded that the chain of production is poor because the cheese shows high bacteria counts and therefore unfit for human consumption. It is recommended that cheese factories can implement Best Management Practices and Hygiene during production of the product, essential to reduce risk of intoxication and microbial contamination to guarantee quality and safety to its marketing.

## CAPÍTULO VII

### 7. BIBLIOGRAFÍA

1. **AMINOT, J.**, Ciencia y Tecnología de la leche., Zaragoza-España., Acribia, S.A., 1991., Pp. 1,2, 11, 10, 20, 43, 249-252,256, 257, 259,280-282.
2. **ALAIS, C.**, Principio de técnica lechera., Barcelona-España., Editorial Reverté S.A., 1985., Pp. 167-168.
3. **ALBARRACIN, F., CARRASCAL, A.**, Manual de Buenas Prácticas de Manufactura para microempresas lácteas., Bogotá-Colombia., Pontifica Universidad Javeriana., 2005., Pp. 18-19,21-24.
4. **ANDERSON, P y otros.**, Microbiología Alimentaria., Madrid-España., Díaz de Santos., 2000., Pp. 17, 19, 55, 60, 83, 85,141, 143.
5. **ALLISON, H y otros.**, *Staphylococcus aureus* Pathogenesis Secretion Systems., Adhesins and Invasins, *Pediatr Infect Dis J.*, s ed., Washington-E.U.A., 2010., Pp. 29, 860,861.

6. **BELL, C., KYRIAKYDES, A.,** *Listeria Una Aproximación Práctica al Microorganismo y su Control en los alimentos.*, Madrid-España., Editorial Acribia S.A., 2000., Pp. 155
  
7. **BONET, B y otros.,** Libro blanco de los lácteos., Madrid-España., s ed., 2008. Pp. 1-53.
  
8. **BRODY, A.,** *Predicting Packaged Food Shelf Life.*, Washington-E.U.A., s ed., 2003., Pp. 100-102.
  
9. **BUSETTI, A., y otros.,** Buenas prácticas de Manufactura en queso artesanal de oveja., Madrid -España., Editorial Talleres gráficos de la E.E.A., 2004., Pp. 15-20.
  
10. **CASTILLO, A.,** *Calidad e Inocuidad en Plantas Lecheras.* Animal Science Department Faculty of Food Science and Technology., Texas-E.U.A., 2009., Pp. 222
  
11. **CASTILLO, M., HUALPA, H.,** *Alimenta ya zona alimentaria., zona alimentaria., inocuidad de los alimentos., consumo de lácteos sin procesar un riesgo latente.*, Madrid-España., s ed., 2010., Pp. 1-6
  
12. **CHAMORRO, C., LOSADA, M.,** *El análisis sensorial de los quesos.*, Madrid-España., Editorial AMV., 2002., Pp. 18-24, 26-170.

13. **CHARM, S.,** Food engineering applied to accommodate food regulations, quality and testing. Alimentos Ciencia e Ingeniería., Washington-E.U.A., s ed., 2007., Pp. 5-8.
14. **COSTE, E.,** Análisis Sensorial de Quesos., Zamora-España., s ed., 2005., Pp. 2-10.
15. **DOYLE, M.,** Food Microbiology Fundamentals and frontiers., Georgia – E.U.A., Edt. Griffini GA., 2007., Pp. 462, 423-530.
16. **ECK, A.,** El queso., Barcelona- España., Editorial Omega S.A., 1990., Pp. 134-167
17. **FRAIZER, W., WESTHOFF, D.,** Microbiología de los Alimentos., Zaragoza-España., Editorial Acribia S.A., 1985., Pp 57-60
18. **FUENTES, L.,** Estudio de parámetros Microbiológicos que afectan la calidad del Queso tipo Gouda., Valdivia-Chile., s ed., 2003., Pp. 92.
19. **GALLEGOS, J.,** Prácticas de Microbiología de Alimentos., 2da. Ed., Riobamba-Ecuador., Gutenberg., 1996., Pp. 1-100.
20. **GONZÁLEZ, B.,** Laboratorio de Microbiología de Alimentos – Departamento de Microbiología y Parasitología., Mérida-Venezuela., s ed., 2010., Pp. 105.

21. **GONZALEZ, M.**, Tecnología para la elaboración de Queso Blanco, Amarillo y Yogurt., Panamá- Panamá., s ed., 2002., Pp. 34-58
  
22. **GONZALEZ. R., BENITO, D.**, Guía de Practicas de higiene para las queserías artesanales de Tenerife. Dirección General de Salud Pública del Servicio Canario de la Salud, de la Consejería de Sanidad. Tenerife- España., s ed., 2005., Pp. 33-34 y 37-38.
  
23. **INDA, A.**, Optimización de Rendimiento y Aseguramiento de Inocuidad en la Industria de la Quesería., Saltillo -México., OEA., 2000., Pp. 5-140.
  
24. **KATHLEEN, L., ESCOTE, S.**, Nutrición y Dietoterapia de clause., Madrid-España., Editorial Mc. Graw-Hill Interamericano., 2001., Pp. 25-54.
  
25. **KEATING, P.**, Introducción a la Lactología., México-México DF., Editorial Limusa., 2002., Pp. 617-622, 627-629.
  
26. **LABUZA, T.**, Shelf-life dating of foods. Connecticut., Washington-E.U.A., 1ra. Ed., s ed., 1982., Pp. 134-164
  
27. **LIU, S.**, Measurement and modelling of moisture content, pH and *Listeria monocytogenes* growth and survival during ripennig of Camembert cheese., Pennsylvania -USA., s ed., 2005., Pp. 12.

28. **LUCAS, E.**, Alimentos e inocuidad. Su importancia para los países de América Latina y El Caribe., México-México DF., s ed., FAO., Pp. 1-2.
29. **MARTÍN, J.**, El queso en la restauración., Chile-Santiago de Chile., Edición N° 6., Editorial Alaire., 2008. Pp, 123-243
30. **MATAIX, J.**, Nutrición y Alimentación Humana., Madrid -España., Editorial Ergon., 2002., Pp. 589.
31. **McCANSE, W.**, The composition of foods sixth Summary., Edition compiled by Food Standards Agency and Institute of Food Research., Washington-E.U.A., s ed., 1993., Pp. 149-205.
32. **MICHANIE, S.**, *Listeria monocytogenes* La bacteria emergente de los 80., Buenos Aires-Argentina., s ed., 2004., Pp. 1-8.
33. **MODIFIED, L.**, Manejo Adecuado de los Alimentos. United States Department of Agriculture., Washington DF –E.U.A., s ed., 2010., Pp. 124-234.
34. **PAHISSA, A.**, Infecciones producidas por *Staphylococcus aureus.*, 1ra. Ed., Madrid-España., s ed., Pp. 16-32.
35. **PEZZI, M y otros.**, Manual de manipulación de alimentos e higiene alimentaria., Madrid-España., s ed., Pp. 28.

36. **PINHEIRO, M.,** Fríos & Lácteos Manual del alumno Escuela Nacional de Supermercados., 4ª Ed., Sao Paulo-Brasil., s ed., 2002., Pp. 10-11
37. **PUERTAS, G., MATEOS, F.,** Enterobacterias., Albacete-España., s ed., 2011., Pp. 3426-3431.
38. **RAY, B., BHUNIA, A.,** Fundamentos de Microbiología de los alimentos., México-México D.F., Editorial Litográfica Ingramex., 2011., Pp 18.
39. **REQUENA, J.,** El Queso y sus Aplicaciones Culinarias., Granada-España., s ed., 2012., Pp. 4-5.
40. **RODRÍGUEZ, J.,** Consecuencias higiénicas de la alteración de los alimentos., Córdoba-España., s ed., 2011., Pp. 15-16.
41. **SINGH, R.,** Scientific Principles of Shelf-Life Evaluation in MAN., Washington-E.U.A., s ed., 2000., Pp. 235-345
42. **VEISSEYRE, R.,** Lactología Técnica., 3a. Ed., Zaragoza -España., Editorial Acribia., 1988., Pp. 640.
43. **VALLADARES, O., FARIA, J.,** Propuestas para mejorar la industria quesera en Venezuela. Universidad del Zulia., Maracaibo-Venezuela., Manual de Ganadería Doble propósito., s ed., 2005., Pp. 150-682.

44. **VARNM, H., SUTHERLAND, J.,** Milk and milk products: Technology., chemistry and microbiology., Londres-Reino Unido., s ed., 1995., Pp. 345-545.
45. **ALBARRACÍN, Y y otros., REVISTA MVZ.,** “Listeria spp., *L. monocytogenes* en leche cruda”., Córdoba-España., s ed., 2008., Pp. 1326-1332
46. **BRITO, C y otros., CIENTIFICA.,** “Evolución de la maduración de queso chanco tipo campo almacenado a altas temperaturas. Parámetros fisicoquímicos y pérdida de peso, Parte 1”., Agro Sur., 1995., No 23., Pp. 95 – 105.
47. **BUSTOS, J y otros., REVISTA BIOMÉDICA.,** “*Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad”., México- México D.F., No 17., Pp. 287-303.
48. **CALLON, C y otros., REVISTA BIOMÉDICA.,** “Application of variable number of tandem repeat analysis to determine the origin of *S. aureus* contamination from milk to cheese in goat cheese farms Food Control”., Madrid- España., No.8., Pp. 19,143–150.
49. **DÍAZ, C y otros., REVISTA CLINICA MICROBIOLÓGICA.,** “Exotoxins of *Staphylococcus aureus*”., Caracas - Venezuela., No 13., Pp. 16-34.

- 50. FIGUEROA, B y otros., REVISTA MÉDICA.,** “Portación de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénicos en manipuladores de alimentos”, Santiago de Chile- Chile., 2002, No130., Vol.8., Pp. 859-64.
- 51. GALLEGOS, J y otros., REVISTA MVZ.,** “Frecuencia de *Listeria* spp. En Quesos Colombianos Costeños”, Bogotá- Colombia., No2., Pp. 996-1011.
- 52. LAMONT, R y otros., REVISTA MÉDICA.,** “Listeriosis in Human Pregnancy: A Systematic Review., Journal of Perinatal Medicine”, Washington– E.U.A., No 39., Vol. 3., Pp. 227-236, 2011.
- 53. MÁRQUEZ, G., GARCÍA, C., REVISTA SOCIAL.,** “Efecto de la nisina sobre la microflora patógena del queso blanco artesanal tipo "telita" elaborado en una quesera de Upata”, Estado Bolívar (Venezuela), 2007., No. 27., Vol. 2., Pp. 108-111.
- 54. POLYCHRONIADOU, A., REVISTA INFORMATIVA.,** “Eyes in cheese: a concise review. Milchwissenschaft”, Washington– E.U.A., 2001., No 56., Vol. 2., Pp .74-77.
- 55. RODRÍGUEZ, M., REVISTA ÉXITO EMPRESARIAL.,** “Uniando los eslabones de la Cadena Alimentaria”, Bogotá- Colombia., 2006., Vol 38., Pp. 1-3.

56. **SCALLAN, E y otros., REVISTA MÉDICA.,** “Foodborne Illness Acquires in the United States Major Patogens”. *Emerging Infectiud Diseases.*, Washington– E.U.A., No. 17., Pp. 12-13.
57. **SANZ, M., REVISTA CIENTIFICA.,** “Circuito del Queso. Leche y Productos Lácteos”. *Distribución Consumo.*, Madrid- España., No.6., Pp. 98-101.
58. **YEPEZ, O., REVISTA INFORMATIVA.,** “Elaboración de Queso Fresco de Leche de Cabra”. *Cuaderno del productor.*, Caracas- Venezuela., No.1., Pp. 68.
59. **COLOMBIA., MINISTERIO DE LA PROTECCION SOCIAL.,** Evaluación de Riesgos de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico en Alimentos Preparados no Industriales en Colombia., s ed., Bogotá-Colombia., 2011., Pp. 17-73.
60. **ECUADOR., PRESIDENCIA DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR.,** Reglamento de Buenas Prácticas para Alimentos Procesados., Registro Oficial No 696., Quito-Ecuador., 2002., Pp 1-21.
61. **ECUADOR., PRESIDENCIA DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR.,** Comité Interministerial de la calidad., Registro oficial No 839., Quito – Ecuador., 2012., Pp 1-3

- 62. FAO., UNITED NATIONS FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, WORLD HEALTH ORGANIZATION.,** Calidad e inocuidad de los alimentos., s ed., 2000. Pp 8-15
- 63. FAO., UNITED NATIONS FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, WORLD HEALTH ORGANIZATION.,** Serie de Buenas Prácticas en el manejo de la leche., Manual 3., Procesos para elaboración de productos lácteos., 2011. Pp. 1-27
- 64. ECUADOR., INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN).** Quesos Clasificación y Designaciones., (NTE INEN 62), Quito Ecuador., INEN 1973., Pp. 1-3.
- 65. ECUADOR., INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN).** Norma General para Quesos Frescos no Madurados. Requisitos., (NTE INEN 1528), Quito Ecuador., INEN 2012., Pp. 2-6.
- 66. ECUADOR., INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN).** Determinación del contenido de Grasas., (NTE INEN 64), Quito Ecuador., INEN 1973., Pp. 1-8.
- 67. ECUADOR., INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN).** Quesos. Determinación del Contenido de Humedad., (NTE INEN 63), Quito Ecuador., INEN 1973., Pp. 1-4.

- 68. ECUADOR., INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN).** Leche cruda. Requisitos., (NTE INEN 09)., Quito Ecuador., INEN 2012., Pp. 2-4.
- 69. ECUADOR., INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN).** Leche cruda. Requisitos., (NTE INEN 10)., Quito Ecuador., INEN 2012., Pp. 2-6.
- 70. ECUADOR., INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN).** Leche. Determinación de la Acidez Titulable., (NTE INEN 13)., Quito Ecuador. INEN 1983., Pp. 1-4.
- 71. ECUADOR., INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN).** Conservas Vegetales. Determinación de la Concentración Ion Hidrógeno (pH)., (NTE INEN 389)., Quito Ecuador. INEN 1985., Pp. 1-2.
- 72. NICARAGUA., NORMA TÉCNICA NICARAÚENSE (NTON 03 022 – 99).** Norma De Quesos Frescos No MADURADOS., Pp.1-10
- 73. CASADIEGO, L.** “Evaluación de la efectividad del agua electrolizada oxidada producida en una celda electrolítica en la inactivación *de Listeria monocytogenesen* lechuga *Lactuca saliva*”, Pontifica Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias., Bogotá-Colombia., 2010., **TESIS.**, Pp. 6-26.

**74. CASTRO. C.,** “Calidad de Agua: Coliformes Totales”. Escuela Superior Politécnica del Litoral Instituto de Ciencias Matemáticas Ingeniería en Auditoría y Control de Gestión., Guayaquil-Ecuador., 2007., **TESIS.**, Pp. 3,4.

**75. ROJAS, C.** “Evaluación de cuatro desinfectantes sobre *Listeria monocytogenes* aislada de productos cárnicos crudos de una planta de procesados en Bogotá”. Pontificia Universidad Javeriana., Facultad de Ciencias., Bogotá-Colombia, 2006., **TESIS.**, Pp. 104.

#### **BIBLIOGRAFÍA DE INTERNET**

**76. AGAR ALOA**

[http://www.lablinsan.cl/imagenes\\_ficha\\_7/nuevoALOA.pdf](http://www.lablinsan.cl/imagenes_ficha_7/nuevoALOA.pdf)

2013/03/02

**77. AGAR BAIRD PARKER**

[http://sapiencia.es/S.\\_aureus](http://sapiencia.es/S._aureus)

2013/03/02

**78. AGAR BAIRD PARKER**

<http://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/HB/CE/PA/ES-PA-255084.pdf>

2013/03/02

**79. AGAR VRB**

<http://www.laanunciataikerketa.com/trabajos/zubitxo/medios.pdf>

2013/03/02

**80. ANALISIS FISICO QUIMICO DEL QUESO**

[http://www.revistavirtualpro.com/files/ti25\\_200512.pdf](http://www.revistavirtualpro.com/files/ti25_200512.pdf)

2013/03/31

**81. CLASIFICACIÓN DE QUESOS**

<http://www.queseriavola.com/clasificaciondelqueso.html>

2013/03/02

**82. CLORURO DE CALCIO Y CODEX**

[http://www.codexalimentarius.net/gsfaonline/additives/details.html?id=197  
&lang=es](http://www.codexalimentarius.net/gsfaonline/additives/details.html?id=197&lang=es)

2013/04/22

**83. COLIFORMES BACTERIAS**

[http://www.communitywatercenter.org/files/trainingmaterials/CWC\\_GFS\\_ColiformBacteria\\_Spanish.pdf](http://www.communitywatercenter.org/files/trainingmaterials/CWC_GFS_ColiformBacteria_Spanish.pdf)

2013/02/18

**84. COLIFORMES**

[http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Tecnic-Basicas-Coliformes-en-placa\\_6528.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Tecnic-Basicas-Coliformes-en-placa_6528.pdf)

2013/03/02

**85. CONSERVACIÓN DE LOS ALIMENTOS**

<http://www.alimentosdeguadalajara.com/tabid/1309/articleType/ArticleView/articleId/73/categoryId/1/Conservacion-de-los-alimentos.aspx>

2013/03/02

**86. CONSERVACIÓN DEL QUESO**

<http://www.queseros.com/conservacion-del-queso/>

2013/03/02

**87. CONSERVAR EL QUESO**

<http://www.tabladequesos.es/ratecheese/jsp/lateralMenu/storingPage.faces>

2013/03/02

**88. DEFINICIÓN DEL QUESO FRESCO**

<http://www.queseriavola.com/clasificaciondelqueso.html>

2013/04/21

**89. ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS**

<http://www.panalimentos.org/comunidad/educacion1.asp?id=67>

2013/02/19

**90. ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (ETA)**

[http://foroadventista.org/forum/showthread.php?6520-Enfermedades-transmitidas-por-alimentos-\(ETA\)](http://foroadventista.org/forum/showthread.php?6520-Enfermedades-transmitidas-por-alimentos-(ETA))

2013/01/25

**91. ENTEROBACTERIAS**

[http://www.oxid.com/UK/blue/prod\\_detail/prod\\_detail.asp?pr=CM1082%20&org=66](http://www.oxid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM1082%20&org=66)

2013/02/20

**92. ENTEROBACTERIAS**

<http://www.unavarra.es/genmic/curso%20microbiologia%20general/13-deteccion%20de%20indicadores%20e%20indices.htm>

2013/03/12

**93. ENTEROBACTERIAS**

[http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias\\_Medicine2010.pdf](http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias_Medicine2010.pdf)

2013/03/24

**94. HISTORIA DEL QUESO**

<http://alimentos.blogia.com/temas/11-quesos.php>

2013/01/23

**95. HISTORIA DEL QUESO**

[http://www.fonaes.gob.mx/doctos/pdf/guia\\_empresarial/quesos.pdf](http://www.fonaes.gob.mx/doctos/pdf/guia_empresarial/quesos.pdf)

2013/02/20

**96. HISTORIA DEL QUESO**

<http://www.vegaehijos.com/seccion/es/28/historia-del-queso.html>

2013/01/23

**97. INDICADORES DE VIDA ÚTIL**

<http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/1107/1121>

2013/02/25

**98. INOCUIDAD ALIMENTARIA**

<http://www.ispch.cl/inocuidad-alimentaria>

2013/01/22

**99. LA CATA DEL QUESO**

<http://www.quesos.com/enciclopedia.asp?P=Cata>

2013/01/19

**100. LAS ENTEROBACTERIAS EN LOS ALIMENTOS**

[http://anitox.us/technical\\_information/latin\\_america/technical\\_pages/A6%20SP%20Enterobacterias%20en%20los%20alimentos.pdf](http://anitox.us/technical_information/latin_america/technical_pages/A6%20SP%20Enterobacterias%20en%20los%20alimentos.pdf)

2013/03/14

**101. LISTERIA**

<http://www.bago.com.ar/vademecum/bibliografia/revisan-las-causas-y-el-tratamiento-de-la-listeriosis-en-la-gestacion/>

2013/02/24

**102. MANIPULACIÓN DE ALIMENTOS**

<http://www.isac.edu.ec/manipulacion%20escuela.pdf>

2013/03/23

**103. MANUAL DE LA OIE PARA ANIMALES**

[http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health\\_standards/tahm/2.09.07.%20Listeria%20monocytogenes.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.09.07.%20Listeria%20monocytogenes.pdf)

2013/03/18

**104. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE BACTERIAS COLIFORMES, COLIFORMES FECALES Y ESCHERICHIA COLI POR LA TÉCNICA DE DILUCIONES EN TUBO MÚLTIPLE (NÚMERO MÁS PROBABLE O NMP)**

[http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/P7\\_NMPcoliformes\\_19617.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/P7_NMPcoliformes_19617.pdf)

2013/02/18

**105. PASOS PARA ELABORAR QUESO FRESCO**

[http://www.inti.gob.ar/atp/pdf/cuadernilloQuesoArtesanalRicotta\\_2Edic.pdf](http://www.inti.gob.ar/atp/pdf/cuadernilloQuesoArtesanalRicotta_2Edic.pdf)

2013/03/01

**106. PATÓGENOS EN LA NEVERA**

<http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-y-consumo/2011/11/23/204980.php>

2013/04/01

**107. PROCEDIMIENTO PARA LA GESTIÓN DE PROCESOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA BASADO EN HACCP**

<http://www.bibliotecas.cu.2009>

2013/01/12

#### **108. PROCESOS DE ELABORACION DEL QUESO**

<http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/guia-alimentos/leche-y-derivados/2003/02/04/57228.php>

2013/02/28

#### **109. PROPIEDADES ORGANOLEPTICAS**

<http://www.chemedia.com/chemorgal.htm>

2013/01/04

#### **110. QUÉ SON LAS ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS**

[http://www.ambiente-ecologico.com/ediciones/alimentos/009\\_Alimentos\\_OMS-OPS\\_EnfermedadesTransmitidasPorAlimentos.php3](http://www.ambiente-ecologico.com/ediciones/alimentos/009_Alimentos_OMS-OPS_EnfermedadesTransmitidasPorAlimentos.php3)

2013/02/03

#### **111. QUESOS EN EL ECUADOR**

<http://www.scribd.com/doc/59481048/Quesos-en-El-Ecuador>

2013/03/20

#### **112. QUESOS FRESCOS**

<http://www.slideshare.net/adrianavigu/tema-2-quesos-frescos>

2013/01/29

#### **113. STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

[http://www.fooddoctors.com/FSF/S\\_aureus.pdf](http://www.fooddoctors.com/FSF/S_aureus.pdf)

2013/01/22

**114. STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

<http://www.alimentacion.enfasis.com/notas/65372-intoxicacion-estafilococica-alimentos>

2013/02/22

**115. STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

<http://www.scielo.cl/pdf/rci/v17n2/art10.pdf>

2013/01/12

**116. VIDA ÚTIL DE LOS ALIMENTOS**

[http://biblioteca.uns.edu.pe/saladocentes/archivoz/curzoz/aula\\_2\\_iii\\_unidad.pdf](http://biblioteca.uns.edu.pe/saladocentes/archivoz/curzoz/aula_2_iii_unidad.pdf)

2013/02/03

**117. VIOLET RED BILE AGAR (VRB AGAR)**

[http://www.scharlabmagyarorszag.hu/katalogus/01-164\\_TDS\\_EN.pdf](http://www.scharlabmagyarorszag.hu/katalogus/01-164_TDS_EN.pdf)

2013/02/16

## CAPÍTULO VIII

### 8. ANEXOS

#### ANEXO 1. QUESERAS A MUESTREAR

| NUM | PARROQUIA | PROPIETARIO                                  | UBICACIÓN                                   | LUGAR DE<br>COMERCIALIZA<br>CION   | PRODUCCIÓN<br>DIARIA | % BPM  | CÓDIGO        | TAMAÑO | MARCAS              |
|-----|-----------|--|---|------------------------------------|----------------------|--------|---------------|--------|---------------------|
| 1   | LICTO     | LUMISACA<br>SINCHE NESTOR<br>FABIAN          | RIOBAMBA Y<br>PROAÑO,<br>PARROQUIA<br>LICTO | RIOBAMBA,<br>MILAGRO,<br>GUAYAQUIL | 450                  | 34,60% | Q1-L001       | G      | LICTEÑITO<br>PROLAN |
| 14  | QUIMIAG   | GUAMAN LEMA<br>OLGA<br>ESPERANZA             | QUIMIAG                                     | TIENDAS DE<br>RIOBAMBA             | 600                  | 75,80% | Q14-<br>Q006  | G      | EL<br>PAJONAL       |
| 12  | QUIIMIAG  | CHULLI GUAMAN<br>JUAN ALBERTO                | QUIMIAG                                     | GUAQUIL-<br>RIOBAMBA               | 150                  | 14.1%  | Q12-<br>Q004  | M      | DANIELA             |
| 26  | SAN JUAN  | GUADALUPE<br>AGUALSACA<br>MARIA<br>MARGARITA | SAN JUAN                                    | RIOBAMBA                           | 100                  | 29,50% | Q28-<br>SJ007 | M      | SAN DIEGO           |
| 8   | PUNGALA   | VELASTEGUI<br>PONCE LORENZA                  | PUNGALA                                     | GUAYAQUIL-<br>RIOBAMBA             | 80                   | 48.7%  | Q8-P007       | M      | VELASTEG<br>UI      |
| 27  | SAN JUAN  | YUMI GUACHO<br>LOLA                          | SAN JUAN -<br>RUMIPAMBA                     | RIOBAMBA-<br>GUAYAQUIL             | 240                  | 46,20% | Q29-<br>SJ008 | M      | SAN JORGE           |

**ANEXO No. 2 MODELO DE LA ENCUESTA EN LOS MERCADOS DE LA CIUDAD DE RIOBAMBA. ENERO 2013.**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**ENCUESTA EN MERCADOS A LOS CONSUMIDORES DE QUESO FRESCO  
ELABORADOS ARTESANALMENTE**

Agradecemos su ayuda con información sobre el consumo y almacenamiento de queso artesanal, que ayudaran a mejorarla calidad del queso, es ejecutado por la ESPOCH.

**DATOS GENERALES**

Código:.....

1. CONSUMEN EN SU HOGAR QUESO FRESCO

SI  NO

2. CON QUE FRECUENCIA CONSUME QUESO FRESCO

DIARIO  SEMANAL  QUINCENAL  MENSUAL  NUNCA

3. QUE MARCA DE QUESO COMPRA REGULARMENTE

.....

4. COMO ALMACENA UD EL QUESO

AMBIENTE  REFRIGERACIÓN  CONGELACIÓN

5. CUANTOS DIAS LE DURA EL QUESO EN LAS CONDICIONES QUE UD  
ALAMCENA

-3 DIAS  1 SEMANA  15 DIAS  1 MES

**ANEXO No. 3 FOTOGRAFÍAS DE LA REALIZACIÓN DE ENCUESTAS EN LOS MERCADOS DE LA CIUDAD. RIOBAMBA. ENERO 2013.**



**ANEXO No. 4 FOTOGRAFÍAS DE LA VENTA DE QUESOS FRESCOS EN LOS DISTINTOS MERCADOS DE LA CIUDAD. RIOBAMBA. ENERO 2013.**



Mercado Santa Rosa



Mercado la Condamine



Mercado La Merced



Mercado San Alfonso



Mercado Mayorista



Mercado La Esperanza

**ANEXO No. 5 FOTOGRAFÍAS DEL SEGUIMIENTO DE LA CADENA DE PRODUCCION HASTA SU COMERCIALIZACION. MARZO 2013.**



IDENTIFICACION



COOLER



TRANSPORTE



QUESO VELASTEGUI



QUESO LICTEÑO

**ANEXO No. 6 FOTOGRAFÍAS DE LOS QUESOS A MUESTREAR. RIOBAMBA. MARZO 2013**



**QUESO SAN JORGE**



**QUESO SAN DIEGO**



**QUESO VELASTEGUÍ**



**QUESO LICTEÑO**



**QUESO PAJONAL**



**QUESO DANIELA**

**ANEXO No. 7 FOTOGRAFÍAS DE LA PREPARACION DE LA MUESTRA.  
RIOBAMBA. MARZO 2013**

Preparación de la muestra



MEDIOS DE CULTIVO



MATERIAL



ESTUFA



REFRIGERADOR



AUTOCLAVE



AMBIENTE



REFRIGERACIÓN

**ANEXO No. 8 FOTOGRAFÍAS DEL ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DEL QUESO FRESCO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. MARZO 2013.**



Determinación de Grasa



Determinación de acidez



Determinación de humedad

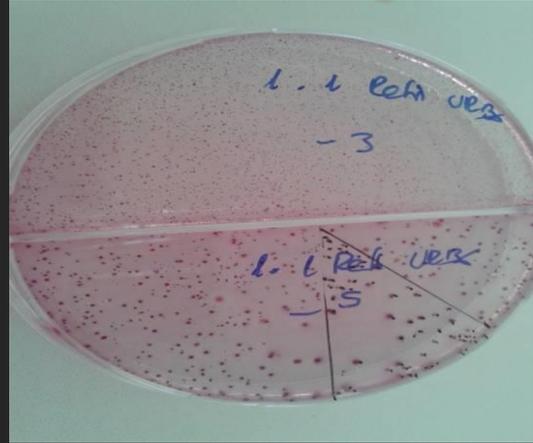


Determinación de pH

ANEXO No. 9 FOTOGRAFÍAS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.  
RIOBAMBA. MARZO 2013



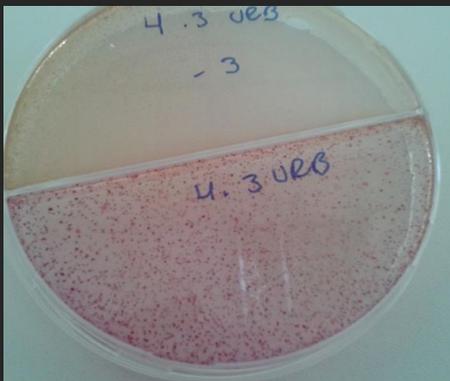
AMBIENTE



REFRIGERACIÓN



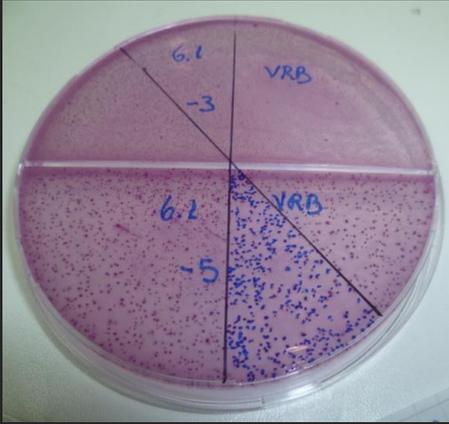
ENTEROBACTERIAS



AMBIENTE



REFRIGERACIÓN



AMBIENTE



REFRIGERACIÓN

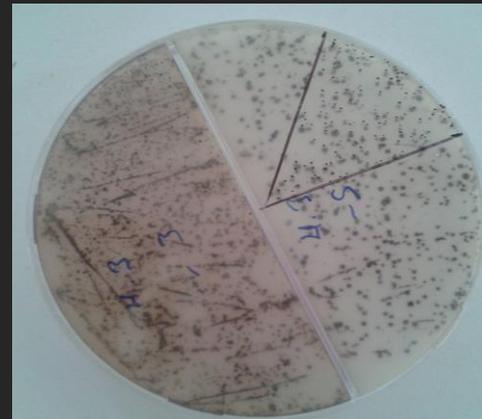
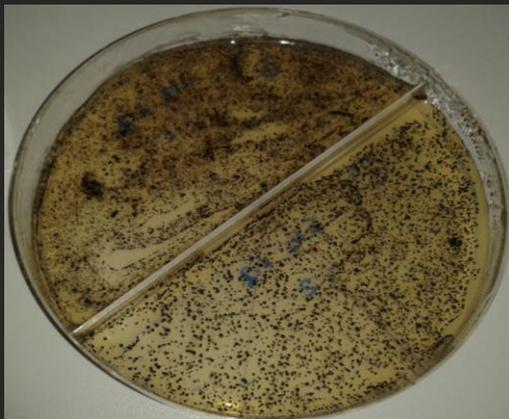
COLIFORMES



AMBIENTE



REFRIGERACIÓN



*Staphylococcus aureus*