



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

**“EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL
QUESO FRESCO ARTESANAL A TRAVÉS DE SU CADENA DE
COMERCIALIZACIÓN, PRODUCIDOS EN UNA QUESERA
ARTESANAL DEL CANTÓN MOCHA DE LA PROVINCIA DE
TUNGURAHUA Y COMERCIALIZADOS EN UNA CIUDAD DE LA
PROVINCIA DEL GUAYAS”**

Trabajo de Titulación

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORAS: FATIMA LOURDES GUARANGA DUCHI

CARLA JANINA RIVADENEIRA SAMANIEGO

DIRECTOR: Dr. CARLOS PILAMUNGA CAPUS Ph.D.

Riobamba - Ecuador

2021

©2021, Fátima Lourdes Guaranga Duchi & Carla Janina Rivadeneira Samaniego

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Nosotras, FATIMA LOURDES GUARANGA DUCHI & CARLA JANINA RIVADENEIRA SAMANIEGO declaramos que el presente trabajo de titulación es de nuestra autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

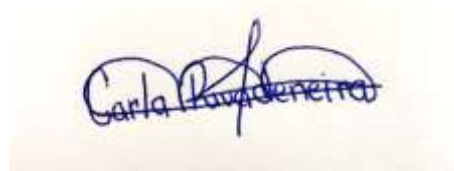
Como autoras asumimos la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación. El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 8 de septiembre del 2021

A handwritten signature in blue ink on a light blue background. The signature is stylized and appears to read 'Fátima Lourdes Guaranga Duchi'.

Fátima Lourdes Guaranga Duchi

060446377-8

A handwritten signature in blue ink on a light yellow background. The signature is stylized and appears to read 'Carla Janina Rivadeneira Samaniego'.

Carla Janina Rivadeneira Samaniego

140075022-8

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

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de Titulación; tipo: Proyecto de Investigación, **EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL QUESO FRESCO ARTESANAL A TRAVÉS DE SU CADENA DE COMERCIALIZACIÓN, PRODUCIDOS EN UNA QUESERA ARTESANAL DEL CANTÓN MOCHA DE LA PROVINCIA DE TUNGURAHUA Y COMERCIALIZADOS EN UNA CIUDAD DE LA PROVINCIA DEL GUAYAS**, realizado por las señoritas **FÁTIMA LOURDES GUARANGA DUCHI** y **CARLA JANINA RIVADENEIRA SAMANIEGO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Violeta Maricela Dalgo Flores MsC. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL	 Firmado electrónicamente por: VIOLETA MARICELA DALGO FLORES	2021-09-08
Dr. Carlos Pilamunga Capus PhD. DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	 Firmado electrónicamente por: CARLOS PILAMUNGA	2021-09-08
Dr. Fabian Ernesto Arias Arias PhD. MIEMBRO DEL TRIBUNAL	 Firmado electrónicamente por: FABIAN ERNESTO	2021-09-08

DEDICATORIA

Este trabajo, realizado con mucho esfuerzo, en primer lugar, lo dedico a Dios y a la Virgen María por haberme bendecido de todas las formas para poder culminarlo, a mis padres y hermanos, por todo el apoyo incondicional que me han sabido brindar durante mi vida y carrera estudiantil, ya que gracias a cada uno de sus sabios consejos he podido seguir luchando frente a cada obstáculo y así alcanzar todas mis metas propuestas. A mis amigos por aportar en mi vida con cada una de sus experiencias, mismas que me motivaron a seguir adelante. A mis maestros por todo el apoyo, consejos y conocimientos impartidos durante la etapa de estudio dentro del establecimiento. Quiero aquí agradecer, además, a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por haberme brindado la oportunidad de formar parte de ella.

Carla

A Dios quien ha sido fundamental en este logro, por darme la oportunidad de haber ingresado a una Universidad, por darme salud y vida. Así mismo por bendecirme con una familia maravillosa quienes siempre han velado por mi bienestar, es por ello que dedico este trabajo de investigación también a mis padres María Duchi y Ángel Guaranga, porque confiaron en mí, por su inmensa paciencia y por su invaluable apoyo.

A mis hermanas; Patricia porque a pesar de ser mi hermana menor fuiste mi inspiración y mi orgullo, ya que con tus logros me enseñaste que hay cosas difíciles de conseguir, pero no imposibles. Fernanda, por ser mi apoyo y aguantar cada niñería mía cuando decía que ya no puedo más pues tus palabras son las que me animaban y me permitían seguir adelante. Karol, a pesar de las circunstancias en que llegaste eres la pequeña que alegra mis días y con cada ocurrencia tuya cambias mis días grises y eres una razón más para seguir luchando por mis sueños. A mi hermano Geovanny, por enseñarme que con dedicación y esfuerzo todo es posible.

Este logro se lo debo a todos ustedes.

Fátima

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios y a la Virgen por haberme permitido culminar una etapa más de mi vida, por darme la fuerza, Fe y el amor espiritual para no caer frente a todos los obstáculos que durante mi vida he pasado. A mis Vidos que con orgullo puedo llamarlos Papás, ya que ellos siempre estuvieron brindándome lo mejor para que pueda tener lo que necesitaba y más que cualquier cosa material, su amor y apoyo, cada una de sus palabras fueron y serán mi fuerza para levantarme y seguir adelante, son infinitas las gracias que puedo dar a quienes me dieron la vida y por quienes soy una gran persona. A mis hermanos por cada una de sus palabras y ocurrencias, mismas que siempre fueron positivas para mí. A mi Sorella, mi Hermana, quien estuvo ahí para reprenderme y hacerme ver que las cosas no siempre salen como uno quiere, y de ello se debe aprender a que todo es bajo la voluntad de Dios y con su Bendición. Gracias familia y hogar por todo el apoyo que me han brindado siempre. A mis amigos y maestros por cada una de sus palabras llenas de sinceridad y de superación hacia mí, gracias les doy por haber formado no sólo una profesional competente, sino porque me enseñaron también a ser humana, y que el éxito siempre lo vamos a obtener con humildad y sencillez.

Agradezco a Dios por bendecirme todo el tiempo para llegar hasta donde he llegado, porque hizo realidad mi proyecto anhelado. A mi familia el apoyo incondicional en cada decisión y a pesar de las circunstancias, siempre he sentido sus manos protectoras, sus voces de aliento y respaldo. A la ESPOCH por brindarme la oportunidad de formar mi perfil profesional y personal. A los profesores quienes fueron un pilar fundamental durante mi etapa estudiantil y que cada uno aportaron con sus conocimientos, en especial al Dr. Carlos Pilamunga por aceptar realizar la tesis bajo su dirección. Así, mismo al grupo de investigación SAGID por el apoyo y colaboración durante la realización de la investigación y al técnico docente BQF Yolanda Buenaño por su importante aporte y participación activa en el desarrollo de la tesis. Cabe destacar, sobre todo, su disponibilidad y paciencia. Agradezco a todos quienes hicieron posible.

Carla & Fátima

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT	
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO.....	4
1.1. Leche y queso.....	4
1.1.1. <i>Composición</i>	4
1.1.1.1. <i>Grasa</i>	6
1.1.1.2. <i>Proteínas</i>	6
1.1.1.3. <i>La caseína</i>	6
1.1.1.4. <i>Las proteínas de suero</i>	7
1.1.1.5. <i>Lactosa</i>	7
1.1.1.6. <i>Sales</i>	9
1.2. Contaminación bacteriana	10
1.2.1. <i>Bacterias en la leche y queso</i>	12
1.3. Normas INEN para queso y leche cruda	15
1.4. Industria láctea.....	16
1.4.1. <i>Producción de leche</i>	17
1.4.2. <i>Producción y PIB</i>	18
1.4.3. <i>Una cuestión de evaluación, no de criterialidad</i>	19
1.4.4. <i>Mejor economía mundial, mayor demanda</i>	20
1.4.5. <i>Producción en el Ecuador, las cifras</i>	21

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA	22
2.1. Lugar de la Investigación.....	22
2.2. Población.....	22

2.3.	Muestra	22
2.4.	Método de muestreo	23
2.5.	Diseño: No experimental	23
2.6.	Nivel de la investigación: Relacional.....	23
2.7.	Enfoque	23
2.8.	Técnicas e instrumentos de recogida de datos.....	23
2.9.	Técnicas de procesamiento de datos	23
2.10.	Lógica de investigación.....	24
2.11.	Materiales, quipos y reactivos.....	25
2.11.1.	<i>Materia prima</i>	25
2.11.2.	<i>Materiales</i>	25
2.12.	Técnicas y métodos	26
2.12.1.	<i>Protocolo de muestreo</i>	26
2.12.1.1.	<i>Productos sólidos</i>	26
2.12.1.2.	<i>Productos líquidos</i>	27
2.12.2.	<i>Composición química</i>	27
2.12.3.	<i>Análisis de acidez titulable</i>	28
2.12.4.	<i>Análisis de pH</i>	29
2.12.5.	<i>Análisis de actividad de agua</i>	29
2.12.6.	<i>Análisis de temperatura</i>	30
2.12.7.	<i>Análisis microbiológicos</i>	30
2.12.7.1.	<i>Preparación de agua peptona, para leche y queso</i>	30
2.12.7.2.	<i>Determinación de coliformes totales por la técnica del número más probable (NTE INEN;1529-6)</i>	31
2.12.7.3.	<i>Determinación e identificación de escherichia coli (NTE INEN;1529-8)</i>	32
2.12.7.4.	<i>Determinación de aerobios mesófilos</i>	33
2.12.7.5.	<i>Determinación e identificación de salmonellas</i>	34
2.12.7.6.	<i>Determinación de Staphylococcus aureus</i>	35

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	36
3.1.	Datos obtenidos	36
3.1.1.	<i>Materia prima leche cruda</i>	36
3.1.2.	<i>Queso fresco, Quesera</i>	41
3.1.3.	<i>Queso fresco, mercado</i>	43

3.1.4.	<i>Queso fresco, Tienda</i>	45
3.1.5.	<i>Datos obtenidos del análisis físico químico en queso fresco.....</i>	50
3.1.6.	<i>Datos obtenidos de la composición química de la leche cruda y tratada térmicamente en la quesera.....</i>	51
3.2.	Resultados y discusión.....	53
3.2.1.	<i>Flujograma de proceso</i>	53
3.2.2.	<i>Resultados del análisis microbiológico de la leche cruda en la quesera.....</i>	54
3.2.3.	<i>Resultados del análisis microbiológico de quesos frescos desde la quesera, mercado y las tiendas.....</i>	54
3.2.4.	<i>Resultados del análisis de la composición química en la leche cruda y tratada térmicamente en la quesera.....</i>	56
3.2.5.	<i>Resultados del análisis físico-químico en el queso fresco desde la quesera, mercado y tienda</i>	57
3.2.6.	<i>Análisis de correspondencias.....</i>	57
3.2.7.	<i>Resultados de las pruebas físico-químicas.....</i>	64
3.2.8.	<i>Discusión</i>	67
	CONCLUSIONES.....	68
	RECOMENDACIONES	69
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXO	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1:	Composición de la leche.....	4
Tabla 2-1:	Composición química del queso fresco.....	5
Tabla 3-1:	Composición química del queso maduro	5
Tabla 4-1:	Sales en la leche	10
Tabla 5-1:	Norma Inen para leche cruda.....	15
Tabla 6-1:	Requisitos microbiológicos para Quesos Frescos.....	16
Tabla 1-2:	Material Utilizado.....	25
Tabla 1-3:	Análisis microbiológico de la leche cruda dentro de la planta.....	54
Tabla 2-3:	Análisis microbiológico de quesos frescos desde quesera, mercado y las tiendas.....	54
Tabla 3-3:	Análisis de la composición química de la leche cruda y tratada térmicamente.....	56
Tabla 4-3:	Análisis físico-químico de queso fresco desde quesera, mercado y las tiendas.....	57
Tabla 5-3:	Prueba de normalidad, número de bacterias.....	57
Tabla 6-3:	Prueba de Levene	58
Tabla 7-3:	Dimensiones producto-bacteria.....	58
Tabla 8-3:	Análisis de filas producto-bacteria.....	59
Tabla 9-3:	Análisis de columnas producto-bacteria.....	59
Tabla 10-3:	Datos obtenidos del análisis microbiológico de coliformes totales, mediante Número Más Probable (NMP) en 1 g de muestra cuando se usan 3 tubos con porciones de 0.1, 1,0 y 10,0.....	45
Tabla 11-3:	Datos obtenidos del análisis microbiológico de quesos frescos: aerobios mesófilos, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>salmonella</i> y <i>E. coli</i>	46
Tabla 12-3:	Datos confirmatorios obtenidos del análisis microbiológico; API para <i>Salmonella</i> , en queso fresco de quesera, mercado y tienda.....	47
Tabla 13-3:	Datos confirmatorios obtenidos de los análisis microbiológicos; API para <i>E. coli</i> , en queso fresco de quesera, mercado y tienda.....	48
Tabla 14-3:	<i>S. aureus</i> -Manitol, muestra 1	49
Tabla 15-3:	<i>S. aureus</i> -Manitol, muestra 2	49
Tabla 16-3:	Análisis físico-químico en la muestra de quesos frescos de la quesera	50
Tabla 17-3:	Análisis físico-químico en la muestra de quesos frescos del mercado.....	50
Tabla 18-3:	Análisis físico-químico en la muestra de quesos frescos de la tienda.....	50
Tabla 19-3:	Composición química en la muestra de leche cruda de la quesera.....	51
Tabla 20-3:	Composición química en la muestra de leche tratada térmicamente de quesera ..	52
Tabla 21-3:	Datos obtenidos del análisis microbiológico de coliformes totales, mediante Número Más Probable (NMP).....	36

Tabla 22-3: Datos obtenidos del análisis microbiológico de leche cruda: aerobios mesófilos, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>salmonella</i> y <i>E. coli</i>	37
Tabla 23-3: Datos obtenidos del analisis microbiologicos de pruebas API para salmonella. (25 g).....	38
Tabla 24-3: Datos obtenidos de los análisis microbiológicos; API <i>E. Coli</i> (UFC/g).....	39
Tabla 25-3: Datos obtenidos de la identificación de <i>Staphylococcus aureus</i>	40
Tabla 26-3: Datos obtenidos del análisis microbiológico de coliformes totales, mediante Numero Más Probable (NMP) en 1 g de muestra cuando se usan 3 tubos con porciones de 0.1, 1,0 y 10,0 ml.....	41
Tabla 27-3: Datos obtenidos del análisis microbiológico quesos frescos: aerobios mesófilos, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>salmonella</i> y <i>E. coli</i>	42
Tabla 28-3: Datos obtenidos del análisis microbiológico de coliformes totales, mediante Numero Más Probable (NMP) en 1 g de muestra cuando se usan 3 tubos con porciones de 0.1, 1,0 y 10,0 ml.....	43
Tabla 29-3: Datos obtenidos del análisis microbiológico quesos frescos: aerobios mesófilos, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>salmonella</i> y <i>E. coli</i>	44
Tabla 30-3: Disolución bacterias	60
Tabla 31-3: Análisis de filas disolución -bacterias	61
Tabla 32-3: Análisis de columnas disolución -bacterias.....	61
Tabla 32-3: Tiempo de incubación-bacterias	62
Tabla 33-3: Análisis de filas Tiempo de incubación-bacterias.....	63
Tabla 34-3: Análisis de columnas tiempo de incubación-bacterias.....	63
Tabla 35-3: Prueba de Levene físico-químicas.....	64
Tabla 36-3: Test Inter sujetos	65
Tabla 37-3: Alfa de Cronbach, pesos de las dimensiones.....	66
Tabla 38-3: Medidas de discriminación en las dimensiones.....	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Estructura de una molécula de lactosa.....	8
Figura 2-1: Digestión de la lactosa.....	9
Figura 3-1: Bacteria <i>Campylobacter</i>	11
Figura 4-1: Bacterias del ácido láctico	13
Figura 5-1: Microorganismos productores de gas causan apertura del queso.....	14
Figura 6-1: Bacteria Propioni.....	14
Figura 1-3: Correspondencia producto-bacteria.....	60
Figura 2-3: Correspondencia disolución-bacteria	62
Figura 3-3: Correspondencia Tiempo de incubación-bacterias	64

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-2:	Proceso de la toma de muestra en los diferentes puntos de muestreo.....	24
Gráfico 2-2:	Calidad de la Leche mediante el equipo Ecomilk	27
Gráfico 3-2:	Análisis de acidez titulable.....	28
Gráfico 4-2:	Análisis de pH.....	29
Gráfico 5-2:	Análisis de actividad de agua	29
Gráfico 6-2:	Análisis de Temperatura	30
Gráfico 7-2:	Preparación de agua peptona (Solución Madre).....	30
Gráfico 8-2:	Determinación de coliformes totales	31
Gráfico 9-2:	Determinación e identificación de <i>Escherichia coli</i>	32
Gráfico 10-2:	Determinación de aerobios mesófilos.....	33
Gráfico 11-2:	Determinación e identificación de salmonella (oxid).....	34
Gráfico 12-2:	Organigrama de recuento en placa de siembra por extensión en superficie. <i>Staphylococcus aureus</i>	35
Gráfico 1-3:	Flujograma de procesos.....	53
Gráfico 2-3:	Medidas de discriminación en las dimensiones	67

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** RECuento MICROBIANO DE *S. AUREUS*
- ANEXO B:** RECuento MICROBIANO DE *SALMONELLA*
- ANEXO C:** RECuento MICROBIANO DE *E. COLI*
- ANEXO D:** RECuento MICROBIANO DE ENTEROBACTERIAS
- ANEXO E:** RECuento MICROBIANO DE ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS
- ANEXO F:** ANÁLISIS DE COMPOSICIÓN QUÍMICA
- ANEXO G:** RECEPCIÓN DEL QUESO EN EL MERCADO

RESUMEN

Se evaluó la calidad microbiológica del queso fresco artesanal de una empresa familiar, ubicada en la provincia de Tungurahua, región sierra, a través de su cadena de comercialización hasta la costa del Ecuador, tomando en cuenta los criterios máximos permitidos en la norma general para quesos frescos no madurados (NTE INEN 1528). Se determinaron cuatro puntos críticos de muestreo en diversas etapas desde la recepción de la materia prima hasta su comercialización, así como las características fisicoquímicas: composición química de la leche cruda como la tratada térmicamente, además de la temperatura, actividad de agua, pH y acidez en el producto terminado en el sitio de la planta y después del transporte; para su análisis a través del tiempo. Se evaluó los niveles de microorganismos indicadores de la calidad microbiológica en los puntos muestreados, contrastando con los máximos permitidos en la NTE-INEN 1528. Se procesó los datos a través del análisis de correspondencias, estableciendo una relación entre el producto queso y enterobacterias en un extremo de la línea de correspondencias versus la leche cruda y la *Salmonella* al lado opuesto de la misma. El proceso de crecimiento de microorganismos (*E.coli*, *Salmonella*, *S. aureus* y *Aerobios mesófilos*) dentro del contexto de la norma mencionada no cumple los requisitos determinados. La calidad fisicoquímica de las muestras analizadas se encuentra dentro NTE-INEN 009:2012. La calidad microbiológica del queso artesanal se encuentra enlazada a focos de contaminación que no son monitoreados por los productores y ello converge en un riesgo alto sobre el incumplimiento de requisitos dictados por la normativa que establece si el producto es apto para consumo humano. Se recomienda la determinación de un contexto legal aplicable sobre controles y mediciones para los procesos artesanales que coadyuven a cumplir con los criterios mínimos microbiológicos del queso fresco artesanal.

Palabras clave: <ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIA>, <REDUCCIÓN DE DIMENSIONES>, <CONTROL DE CALIDAD>, <MICROBIOLOGÍA>, <PRODUCTOS LÁCTEOS>.

LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Firmado digitalmente por LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Nombre de reconocimiento (DN): c=EC, o=BANCO CENTRAL DEL ECUADOR, ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE INFORMACION-ECRICE, l=QUITO, serialNumber=0000621485, cn=LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Fecha: 2022.04.14 09:53:46 -05'00'



0684-DBRA-UTP-2022

ABSTRACT

The microbiological quality of artisanal fresh cheese of a family business was evaluated, through its marketing chain which goes from Tungurahua province, in the highlands region, where it is located, to the coast of Ecuador, taking into account the maximum criteria allowed in the general standard for fresh unripened cheeses (NTE INEN 1528). Four critical sampling points were determined at various stages, from the raw material reception to its commercialization, as well as the physicochemical characteristics: chemical composition of raw milk as well as heat-treated milk, in addition, temperature, water activity, pH and acidity in the finished product at the manufacturing plant and after transportation, for analysis over time. The levels of microorganisms, indicators of the microbiological quality in the sampled points, were evaluated, contrasting with the maximum levels allowed in the NTE-INEN 1528. The data was processed through correspondence analysis, establishing a relationship between the cheese product and enterobacteria in one end of the correspondence line versus raw milk and *Salmonella* on the opposite side of it. The growth process of microorganisms (*E.coli*, *Salmonella*, *S. aureus* and *Mesophilic Aerobes*) within the context of the aforementioned standard does not meet the determined requirements. The physicochemical quality of the analyzed samples is within NTE- INEN 009:2012. The microbiological quality of artisanal cheese is linked to contamination sources which are not monitored by the producers and this converges in a high risk of non- compliance with the regulations which establish whether the product is suitable for human consumption. The determination of an applicable legal context on controls and measurements for artisanal processes that help meet the minimum microbiological criteria for artisanal fresh cheese is recommended.

Keywords: <CORRESPONDENCE ANALYSIS>, <DIMENSION REDUCTION>, <QUALITY CONTROL>, <MICROBIOLOGY>, <DAIRY PRODUCTS>.

EDISON
HERNAN
SALAZAR
CALDER
ON

Firmado digitalmente por EDISON HERNAN SALAZAR CALDERON
Fecha: 2022.04.19 15:46:02 -05'00'

INTRODUCCIÓN

En Ecuador, en 2018, se producían alrededor de 5 millones de litros de leche cada día, esta cifra correspondía al ordeño de unas 830 mil vacas, cada una de las cuales proporciona 6 litros al día, así mismo. La producción antes mencionada permitía, para aquel año, que cada 3 personas pudiesen consumir un litro del nutritivo líquido, diariamente.

La región interandina genera la mayor producción láctea con alrededor del 70% a lo cual se opone apenas un significativo 9% de la provincia de Manabí, en la costa del país. Pichincha, con el 22%, es la provincia con mayor generación de leche frente a Chimborazo, que a pesar de los amplios espacios de tierras altas y campesinas que posee, solo alcanza el 7%. (Centro de Industria Láctea del Ecuador, 2020, p.8)

De los 5 millones de litros diarios que se producen en la nación, alrededor de 1 millón 800 mil se destinan al autoconsumo, 2 685 000 de litros, el 53%; corresponden a la industria formal, desagregándose de la siguiente forma: leche en funda 19%; quesos, 37%; leche en cartón, 16%; leche en polvo, 9%; yogurt, 15%; y otros, 3%. La industria láctea produce 1 millón 121 883 dólares de ventas anuales.

El problema de interés del presente trabajo de titulación fue conocer la relación de: microorganismos, su número, la muestra en el sitio de fabricación y expendio, así como los productos lácteos: leche cruda y queso fresco, fabricados artesanalmente y comercializados a baja escala en mercados de la ciudad de Duran, provincia del Guayas. La normativa referente está basada, entre otros documentos, en: (INEN 2013), (INEN 1984), (INEN 2012b),(INEN, 2012a),(INEN 2015). Los intereses académicos, según se puede percibir a partir del análisis de al menos 30 artículos científicos de revistas indexadas, producción que incluye en su gran mayoría registro DOI; se refieren ya no a la calidad de la leche y el queso, a excepción de países como India o Tailandia, enfocándose más bien en la industrialización, formas de distribución y recuperación del consumo frente a los substitutos.

La presente tesis se halla dividida en cinco partes siendo la primera la introducción, una justificación basada en el impacto de esta investigación, beneficiarios, originalidad y otros atributos de calidad, así como los objetivos del trabajo.

Las partes en las cuales se estructura el trabajo incluyen las bases teóricas acerca del queso, la leche cruda, las bacterias, la contaminación, la industria láctea y la producción, todo lo anterior en base a las publicaciones académicas, es decir, en contraste con la realidad que se vive en el primer y el tercer mundo, la metodología científica con la cual fue elaborado este trabajo: tipo, nivel, enfoque, diseño de investigación, población, muestra, métodos, etc. La segunda parte de este capítulo incluye la lógica de la investigación, es decir el enfoque técnico-procedimental, los datos recogidos de la investigación. Se incluyen, además, los resultados desagregados del tratamiento estadístico basado en la técnica de análisis de correspondencias, por ser el más

adecuado para el caso, por la naturaleza de los datos. Se desagregan diversas conclusiones basadas en los objetivos planteados en la primera, y en el proyecto de tesis que fue el preámbulo al presente desarrollo. La última parte determina las referencias bibliográficas utilizadas esencialmente en el marco teórico, gestionadas en Mendeley.

JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

A pesar de que existen estudios acerca de la industria láctea, además quesera artesanal y su calidad, tanto en la provincia de Chimborazo, donde se afinsa la Escuela Superior Politécnica, como en otras, el enfoque no es más que de validación interna, es decir, la comparación de la coyuntura productiva con las normas correspondientes, el presente, en cambio, lo realiza a la luz de los resultados y la aplicación de herramientas estadísticas acertadas para el estudio.

El impacto de este trabajo recae directamente en los tomadores de decisiones ya que los resultados obtenidos; no solo en la aplicación de las normas, lo que caería en el campo de los servicios y no de la investigación; parten de los recursos científicos que logran vincular, como se esperaba: productos, microorganismos y su cuenta.

Los beneficiarios de la presente investigación de grado son la academia, los pequeños productores de leche, así como quienes elaboran quesos artesanales en base a leche cruda y lo expenden en mercados de la ciudad. Finalmente se beneficiará toda la comunidad con la publicación de esta tesis por la aplicabilidad de los resultados obtenidos, recordando que el consumo de lácteos no es tan “inocente” como pudiera pensarse ya que, por ejemplo, estudios demuestran que las ETAs se relacionan con dicho consumo.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo General

Evaluar la calidad microbiológica del queso fresco artesanal a través de la cadena de comercialización.

Objetivos Específicos

- Determinar los puntos críticos de muestreo desde la recepción de la leche hasta su comercialización mediante un flujograma de procesos.
- Determinar las características fisicoquímicas: composición química de la leche cruda y tratada térmicamente; y la temperatura, actividad de agua, pH y acidez, en el producto terminado en la planta, después del transporte para su comparación a través del tiempo.
- Evaluar los niveles de microorganismos indicadores de la calidad microbiológica en los puntos muestreados, considerando los máximos permitidos de la norma NTE-INEN 1528.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Leche y queso

El diccionario de la Real Academia de la Lengua Española, define a la leche como “líquido blanco que segregan las mamas de las hembras de los mamíferos para alimento de sus crías” (RAE, 2021,p.25). La leche es un producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos, sin ningún tipo de adición o extracción, destinada a un tratamiento posterior previo a su consumo (NTE-INEN: 009, 2012).


Acerca del queso, la misma academia menciona a este como: “Producto obtenido por maduración de la cuajada de la leche con características propias para cada uno de los tipos según su origen o método de fabricación”.

1.1.1. Composición

La leche contiene más agua que cualquier otro elemento, alrededor del 87% para las vacas lecheras. Los otros elementos se disuelven, se dispersan coloidalmente y se emulsionan en agua. Las cantidades de los principales componentes de la leche pueden variar considerablemente según el animal, su raza, etapa de lactancia, edad y estado de salud. Las prácticas de manejo del rebaño y las condiciones ambientales también influyen en la composición de la leche (Cristiano Cortes, 2021,p.16).

Tabla 1- 1. Composición de la leche

PRINCIPAL CONSTITUYENTE	RANGO %	MEDIA
Agua	85,5-89,5	87
Sólidos totales	10,5-14,5	13
Grasa	2,5-6,0	4
Proteínas	2,9-5,0	3,4
Lactosa	3,6-5,5	4,8
Minerales	0,6-0,9	0,8



Fuente: (Guevara et al, 2019).

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Tabla 2-1. Composición química del queso fresco

COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL QUESO FRESCO	
PARÁMETRO	VALOR
TEMPERATURA	7.8-26.2
PH	4.84-6.07
FORMA	DIVERSAS
PESO. G	100-250
HLIMEDAD %	42.71-66.66
MATERIA SECA %	1.68-3.38
CENIZAS	2.65-5.24
NACL %	0.29-1.44
PROTEÍNAS	16.81-26.62
GRASA %	12-32




Fuente: (Guevara et al, 2019).

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Tabla. 3-1. Composición química del queso maduro

COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL QUESO MADURO CAMEMBERT	
PARÁMETRO	VALOR
ENERGÍA	297 KCAL
PROTEÍNAS	20 G
GRASA TOTAL	24 G
GRASA SATURADA	15 G
GRASA MONOINSATURADA	6.5 G
GRASA POLIINSATURADA	0.6 G
COLESTEROL	92 MG
HIDRATOS DE CARBONO	0.4



Fuente: (Guevara et al, 2019).

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

1.1.1.1. Grasa

Si se deja reposar la leche, se forma una capa de crema en la superficie. La nata difiere considerablemente en apariencia de la capa inferior de leche desnatada. Bajo el microscopio se puede ver que la crema consiste en una gran cantidad de esferas de diferentes tamaños que flotan en la leche. Cada esfera está rodeada por una fina piel (la membrana del glóbulo graso) que actúa como agente emulsionante de la grasa suspendida en la leche. La membrana protege la grasa contra las enzimas y evita que los glóbulos se fusionen en granos de mantequilla. La grasa está presente como una emulsión de aceite en agua: esta emulsión puede romperse por acción mecánica como agitar (Monks et al. 2020).

Aproximadamente el 98% de la grasa de la leche es una mezcla de triacilglicerolos, con cantidades mucho más pequeñas de ácidos grasos libres, mono y diacilglicerolos, fosfolípidos, esteroides e hidrocarburos. La grasa de la leche también contiene pigmentos (por ejemplo, caroteno, que le da a la mantequilla su color amarillo) y ceras. La grasa de la leche actúa como disolvente de las vitaminas liposolubles A, D, E y K y también aporta ácidos grasos esenciales: linoleico, linolénico y araquidónico (Guevara-Freire et al., 2019, p. 14).

1.1.1.2. Proteínas

Las proteínas realizan una variedad de funciones en los organismos vivos que van desde proporcionar estructura hasta la reproducción. Las proteínas de la leche representan una de las mayores contribuciones de esta a la nutrición humana. Las proteínas son polímeros de aminoácidos (Bondan et al., 2018, p.1). Solo se encuentran 20 aminoácidos diferentes, habitualmente en las proteínas, por tanto, el contenido y la secuencia de aminoácidos de una proteína afectan sus propiedades. Algunas proteínas contienen sustancias distintas de los aminoácidos, como en el caso de las lipoproteínas que contienen grasas y proteínas. Las proteínas antes mencionadas se denominan proteínas conjugadas, como fosfoproteínas, lipoproteínas y cromoproteínas. El fosfato está ligado químicamente a las fosfoproteínas, la caseína en la leche es un ejemplo. Una combinación de lípidos y proteínas forma la lipoproteína y son excelentes agentes emulsionantes. Las cromoproteínas son proteínas con un grupo prostético coloreado e incluyen hemoglobina y mioglobina.

1.1.1.3. La caseína

Es un nombre de grupo para la clase dominante de proteína en la leche. La leche bovina normal contiene aproximadamente un 3,5% de proteína, de acuerdo con la cual la caseína constituye aproximadamente un 80%. La caseína se separa fácilmente de la leche, ya sea por precipitación

ácida o añadiendo renina. En la elaboración de queso, la mayor parte de la caseína se recupera con la grasa de la leche. La caseína también se puede recuperar de la leche desnatada, como un producto separado (Cristiano Cortes 2021).

La caseína se dispersa en la leche en forma de micelas. Las micelas son estabilizadas por la K-caseína. Las caseínas son hidrófobas, pero la K-caseína contiene una porción hidrófila conocida como *glicomacropéptido* y es esto lo que estabiliza las micelas. La estructura de las micelas no se comprende completamente (Bondan et al. 2018).

1.1.1.4. Las proteínas de suero

Se componen de una serie de proteínas distintas. La proteína de suero comprende el grupo de *proteínas en el suero*, durante el proceso de elaboración del queso. La mencionada proteína de suero también contiene fragmentos de moléculas de caseína (Atashi & Hostens, 2021, p.53).

Una vez que se han eliminado la grasa y la caseína de la leche, se deja el suero, que contiene las sales solubles de la leche, el azúcar de la leche y el resto de las proteínas de esta. Al igual que las proteínas de los huevos, las proteínas del suero pueden coagularse con calor, cuando estas se coagulan, se pueden recuperar con caseínas en la fabricación de quesos de tipo ácido. Las proteínas del suero se componen de una serie de proteínas distintas, las más importantes de las cuales son la *b-lactoglobulina* y la *lactoglobulina*. La *b-lactoglobulina* representa aproximadamente el 50% de las proteínas del suero y tiene un alto contenido de aminoácidos esenciales, formando un complejo con *K-caseína* cuando la leche se calienta a más de 75 ° C, y este complejo afecta las propiedades funcionales de la leche. La desnaturalización de la *b-lactoglobulina* provoca el sabor cocido de la leche calentada (Cristiano Cortes, 2021, p.22).

Cuando se cambia el pH de la leche, los grupos ácidos o básicos de las proteínas se neutralizarán. En el pH en el que la carga positiva de una proteína es exactamente igual a la carga negativa, la carga total neta de la proteína es cero. Este pH se denomina punto isoeléctrico de la proteína (pH 4,6 para la caseína). Si se agrega un ácido a la leche, o si se permite que las bacterias productoras de ácido crezcan en la leche, el pH desciende. A medida que cae el pH, la carga de la caseína cae y se precipita, por lo tanto, la leche se cuaja a medida que se agria o la caseína se precipita más completamente a un pH bajo.

1.1.1.5. Lactosa

Es la principal fracción de carbohidratos en la leche. Está compuesta por dos azúcares, glucosa y galactosa. El contenido medio de lactosa de la leche varía entre 4,7 y 4,9 %, aunque la leche de vaca puede variar más; la mastitis reduce la secreción de lactosa.

La lactosa es una fuente de energía para el ternero joven y aporta 4 calorías / g de lactosa metabolizada, es menos soluble en agua que la sacarosa y también menos dulce (Atashi a Hostens 2021). Las bacterias que tienen la enzima *b-galactosidasa* pueden descomponerla en glucosa y galactosa. La glucosa y la galactosa pueden fermentarse luego en ácido láctico, esto ocurre cuando la leche se agria. En condiciones controladas, también se pueden fermentar a otros ácidos para dar el sabor deseado, como la fermentación con ácido propiónico en la fabricación de queso suizo (Cristiano Cortes 2021).

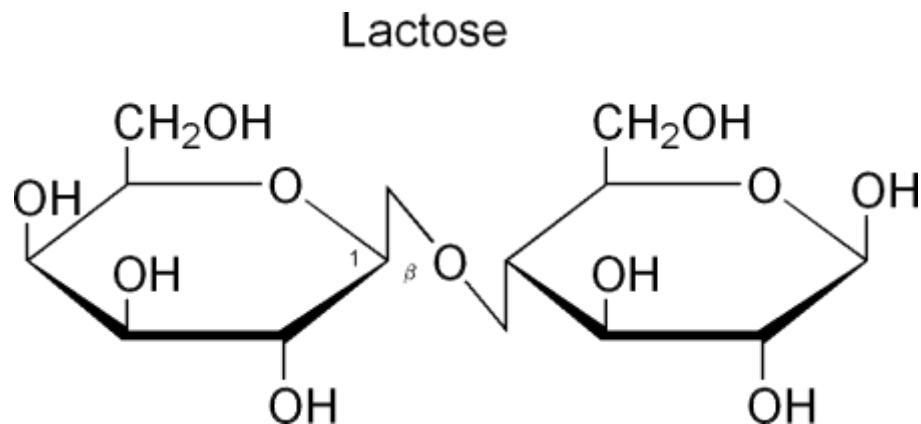


Figura 1-1. Estructura de una molécula de lactosa

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

La lactosa está presente en la leche en solución molecular. En la elaboración de queso, la lactosa permanece en la fracción de suero. Se ha recuperado del suero para su uso en la industria farmacéutica, donde su baja solubilidad en agua lo hace adecuado para recubrir comprimidos. La lactosa se utiliza para fortalecer la fórmula de alimentos para bebés (Bondan et al. 2018). Este componente se puede rociar sobre el ensilaje para aumentar la tasa de desarrollo de ácido en la fermentación del mencionado ensilaje, se puede convertir en etanol, usando ciertas cepas de levadura. La biomasa de la levadura se recupera y se usa como alimento para animales, sin embargo, estos procesos son costosos y se necesita un gran rendimiento para que sean rentables. Para los pequeños agricultores, el suero se utiliza mejor como alimento sin ningún procesamiento adicional.

Calentar la leche por encima de los 100°C hace que la lactosa se combine de forma irreversible con las proteínas de la leche. Esto reduce el valor nutricional de la leche y también la vuelve marrón.

Debido a que la lactosa no es tan soluble en agua, como la sacarosa, la adición de sacarosa a la leche hace que la lactosa salga de la solución y se cristalice, esto causa arenosidad en productos como los helados. Se requiere un procesamiento especial para cristalizar la lactosa cuando se fabrican productos como la leche desnatada o en polvo, instantánea.

Algunas personas no pueden metabolizar la lactosa y, como resultado, sufren una alergia. El pretratamiento de la leche con enzima lactasa descompone la lactosa y ayuda a superar esta dificultad (Cristiano Cortes 2021).

La leche contiene trazas de glucosa y galactosa. Los carbohidratos también están presentes en asociación con las proteínas. K-caseína, que estabiliza el sistema de caseína, es una proteína que contiene carbohidratos.

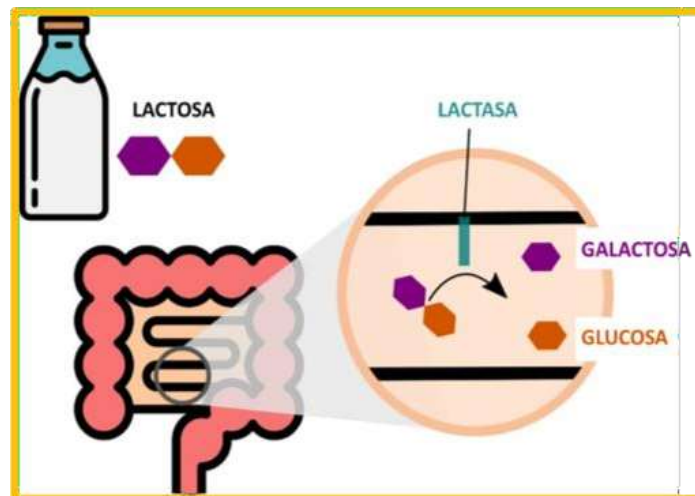


Figura 2-1. Digestión de la lactosa

Fuente: Sigfried Rhein. 2001.

1.1.1.6. Sales

Son, principalmente cloruros, fosfatos y citratos de sodio, calcio y magnesio. Aunque las sales comprenden menos del 1% de la leche, influyen en su tasa de coagulación y otras propiedades funcionales. Algunas sales están presentes en verdadera solución. El estado físico de otras sales no se comprende completamente. El calcio, magnesio, fósforo y citrato se distribuyen entre las fases soluble y coloidal (tabla 1.4). Sus equilibrios se alteran por calentamiento, enfriamiento y por un cambio de pH.

Además de las principales sales, la leche también contiene oligoelementos¹ (Canales MAPFRE 2021). Algunos elementos llegan a la leche a partir de alimentos, pero los utensilios y el equipo de ordeño son fuentes importantes de elementos como el cobre, el hierro, el níquel y el zinc.

¹ Flúor, Yodo, Cromo, Cobalto, Hierro, Estaño, Litio, Selenio, Silicio, Manganeso, Molibdeno, Cobre, Vanadio y Zinc.

Tabla 4-1. Sales en la leche

	TOTAL	DISUELTO	COLLOIDAL
	mg/100 mL	mg/100 mL	mg/100 mL
Calcio	1320,1	51,8	80,3
Magnesio	10,8	7,9	2,9
Fósforo total	95,8	36,3	59,6
Citrato	156,6	141,6	15,0



Fuente: (Guevara et al, 2019).

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

1.2. Contaminación bacteriana

La leche cruda refrigerada puede contener microorganismos psicotrópicos que producen exoproteasas y lipasas termorresistentes, que pueden comprometer la calidad de la leche líquida procesada y los productos lácteos durante el almacenamiento (Msalya 2017). En Brasil se estableció un estudio cuyo objetivo fue cuantificar e identificar el deterioro del microbiota psicotrónica en la leche cruda refrigerada mediante un análisis de diversidad genética. El recuento psicotrónico medio fue de $1,1 \times 10^4$ ufc / ml. del total de aislamientos, de los cuales 47,8 y 29,8% mostraron un deterioro de la actividad a 35° C, en 48 horas, 7° C en 10 días, respectivamente. Entre las especies proteolíticas más aisladas por el estudio fueron *Lactococcus lactis* (27,3%), *Enterobacter kobei* (14,8%), *Serratia ureilytica* (8%), *Aerococcus urinaeequi* (6,8%) y *Bacillus licheniformis* (6,8%). Entre los lipolíticos se observaron *E. kobei* (17,7%), *L. lactis* (15,6%), *A. urinaeequi* (12,5%) y *Acinetobacter lwoffii* (9,4%). Los aislados *S. ureilytica*, *E. kobei*, *Pseudomonas spp.* y *Yersinia enterocolitica*, produjeron potencialmente metaloproteasa alcalina. A pesar de los bajos recuentos, una porción considerable de la microbiota psicotrónica presentó potencial de deterioro, lo que reafirma la necesidad de rigor en el control de la contaminación y la importancia del procesamiento rápido como factores que mantienen la calidad de la leche y los productos lácteos (Ribeiro Júnior et al. 2018).

La gastroenterocolitis, por otro lado, causada por la bacteria *Campylobacter* es una de las enfermedades zoonóticas infecciosas agudas transmitidas por los alimentos, más comunes (Madera et al. 2004). Uno de los factores importantes para la transmisión de la infección son los productos lácteos contaminados (Gonzalez et al. 2017), por lo que la evaluación de la contaminación de la leche cruda con *Campylobacter* es necesaria para desarrollar medidas efectivas y así suprimir el crecimiento del patógeno, garantizando la seguridad de los productos (Efimochkina N.R. et al. 2019).



Figura 3-1. Bacteria *Campylobacter*

Fuente: Freedom Age. 2006.

En 2019 Efimochkina et al. realizaron un estudio cuyo objetivo fue evaluar las características microbianas en muestras de leche cruda y la naturaleza de su contaminación con bacterias termófilas del género *Campylobacter* (Simaluiza et al. 2018), para lo cual se analizaron un total de 60 muestras de leche cruda y 48 muestras de leche cruda infectadas experimentalmente. Para evaluar la contaminación microbiana de la leche, se determinó el número de microflora extraña, incluidas las bacterias coliformes (CFB). La identificación y cuantificación de bacterias del género *Campylobacter* se llevó a cabo mediante métodos de cultivo en comparación con el ensayo cuantitativo de PCR. Para la PCR, se utilizaron cebadores que detectaron la secuencia específica de especie del ARNr 16s de *C. jejuni*, la presencia del gen de la toxina citotóxica *cdtB* y el gen de invasión *ciaB*. Las autoras encontraron que parte significativa de las muestras de leche cruda (31,6%) se caracterizó por altos niveles de contaminación microbiana, superior a 106 UFC / cm³. Las bacterias gramnegativas fueron el tipo dominante de microflora bacteriana, sus niveles fueron comparables con los valores detectados del número total de microorganismos. Por otro lado, el estudio arrojó que se encontraron bacterias coliformes en todas las muestras estudiadas, y su contenido, en el 90% de las muestras, alcanzó 105 UFC / cm³, y en algunas muestras - 107 UFC / cm³. *Campylobacter* spp. La tasa de detección en leche cruda fue de 8.3% y su número varió de 0.1 a 100 UFC / cm³ (promedio de 2.0x10 UFC / cm³). Las cepas aisladas de *Campylobacter* se identificaron como una especie de *C. jejuni*. En el estudio del trasfondo microbiano de las muestras examinadas de leche cruda, se llevó a cabo simultáneamente un análisis comparativo de su contaminación por *Campylobacter* mediante rti-PCR. La mayoría de las muestras (más del 60%) fueron positivas para la presencia de la secuencia genómica del ARNr 16s y se caracterizaron por los valores más altos de contaminación bacteriana total y la cantidad de coliformes. El uso de un enfoque de múltiples cebadores (pruebas simultáneas para la presencia

de ARNr 16s y el gen de la toxina *citoletal cdtB C. jejuni*) redujo el número de casos positivos de detección de ADN de *Campylobacter* al 16.6%, lo que sugiere un mayor valor informativo del gen *cdtB* para la detección de células viables, incluidas las no cultivadas. Una evaluación indicativa de los resultados en formato cuantitativo mostró niveles de 104-1065 equivalentes genómicos del ADN en 1 cm³, sugiriendo la posible presencia de células de *Campylobacter* viables en las sondas ensayadas con una frecuencia significativamente mayor que la establecida por el método de cultivo. El estudio concluyó que a niveles bajos de contaminación por *Campylobacter*, los métodos microbiológicos no proporcionan una detección confiable del patógeno debido a la contaminación masiva de la leche cruda por microflora extraña.

1.2.1. Bacterias en la leche y queso

Se identifican siete tipos de bacterias, según cómo cambian las propiedades de la leche. A menudo, estos cambios son negativos, pero muchas de estas bacterias son importantes para el desarrollo del sabor del queso.

Las bacterias formadoras de esporas pueden existir en una forma muy estable como 'esporas'. En estado de esporas, las bacterias soportan mayores extremos de acidez, temperatura y desecación. Las enzimas son catalizadores biológicos que aceleran la velocidad de las reacciones bioquímicas. Las enzimas bacterianas son más importantes para el deterioro de la leche y la maduración del queso, pero es importante distinguir entre la enzima y la fuente bacteriana; por ejemplo, muchas bacterias psicrótrólicas² producen enzimas termoestables que permanecen activas en la leche y el queso, incluso después de que las bacterias mueren por pasteurización (Canadian Research Institute for Food Safety (CRIFS) 2021)

Teniendo en cuenta las definiciones anteriores, los siguientes tipos de microorganismos, agrupados según su impacto en la calidad de la leche son:

Bacterias del ácido láctico (BAL) que fermentan la lactosa a ácido láctico y otros productos finales. Las *BAL* pueden metabolizar fácilmente la lactosa (Pasolli et al. 2020), por lo que tienen alguna ventaja competitiva sobre otros microorganismos; no obstante, su capacidad para metabolizar la lactosa, los *BAL* prefieren temperaturas superiores a 30° C, por lo que, dependiendo de los recuentos relativos iniciales, las bacterias psicrótrólicas, incluidas algunas bacterias coliformes y *Pseudomonas*, pueden superar las *BAL* a temperatura ambiente.

² Psicrótrófico se refiere a microorganismos que pueden crecer a temperaturas inferiores a 7 ° C. El almacenamiento y transporte de leche fría selecciona bacterias psicrótrólicas que a menudo son proteolíticas y lipolíticas. Las bacterias psicrótrólicas comunes en la leche son especies de micrococcos, bacilos, estafilococos, lactobacilos, *Pseudomonas* y coliformes. Las especies de *Pseudomonas* son las más comunes y suelen tener el mayor impacto en la calidad. A temperaturas de 2 a 4 ° C, el crecimiento bacteriano en la leche se debe principalmente a cepas de *Pseudomonas fluorescens*. Se produce poco crecimiento a temperaturas inferiores a 2 ° C.

- Bacterias proteolíticas que degradan las proteínas y provocan amargura y putrefacción. Los más importantes en la leche de queso son las especies de:
 - Pseudomonas que son psicrótróficas y producen lipasas termoestables (Samillán 2017).
 - Bacilos que forman esporas termoestables y sobreviven a la pasteurización (Peña 2021).
- Bacterias lipolíticas que degradan grasas y producen rancidez lipolítica (USGAME et al., 2018, p.3). Un ejemplo común en la leche es el género *Pseudomonas*. Varias especies psicrótróficas de estas producen lipasas termoestables, así como proteasas.



Figura 4-1. Bacterias del ácido láctico

Fuente: British Bee, Veterinary Association. 2010.

Microorganismos productores de gas que causan apertura del queso; cuajada flotante en el requesón y leche gaseosa.

Las levaduras siempre están presentes en la leche y son contaminantes comunes durante el proceso de elaboración del queso, estas pueden causar 'hendiduras de levadura' y contribuir a la maduración del queso en la superficie (Canadian Research Institute for Food Safety (CRIFS), 2021, p.5).

Las bacterias coliformes siempre están presentes en la leche, pero su número puede minimizarse con un buen saneamiento, además, las bacterias coliformes compiten poco con las bacterias del ácido láctico, por lo que su número disminuye rápidamente en presencia de un cultivo de ácido láctico de rápido crecimiento.

El *Clostridium tyrobutyricum* es un organismo formador de esporas termodúrico³ de fama legendaria entre los queseros. *C. tyrobutyricum* provoca la formación de gas (dióxido de carbono) durante las últimas etapas de maduración de los quesos de tipo suizo y holandés. Los cráteres y grietas resultantes en el queso se denominan "defecto de gas tardío" (Amaboldi et al., 2021, p.22). Los fabricantes de queso europeos con frecuencia revisan la leche cruda en busca de bacterias

³ Que sobrevive a la pasteurización

termodúricas y / o formadoras de esporas para estimar el potencial de defectos tardíos de los gases. Quinientas esporas por litro de leche son suficientes para causar un defecto de gas tardío.



Figura 5-1. Microorganismos productores de gas causan apertura del queso

Fuente: National Geographic. 2007.

La bacteria *Propioni* produce la formación de gas deseable en el queso tipo suizo. Algunos cultivos lácticos, llamados *hetero fermentativos*, también producen dióxido de carbono.

Las bacterias viscosas causan leche fibrosa debido a la excreción de polisacáridos gomosos. Por lo general, las bacterias viscosas como *Alcaligenes viscolactis*, son indeseables. Sin embargo, en algunos productos lácteos fermentados, se utilizan bacterias viscosas del ácido láctico, como ciertas subespecies de *Lactococcus lactis*, para desarrollar la textura (Canadian Resarch Institute for Food Safety (CRIFS, 2021, p.11).

Las bacterias cuajadas dulces producen enzimas parecidas al cuajo que pueden coagular la leche (LEITE JÚNIOR, 2017, p.33). Ejemplos comunes son los formadores de esporas psicrotróficas *Bacillus subtilis* y *Bacillus cereus*.



Figura 6-1. Bacteria Propioni

Fuente: Alamy. 2018.

Se han asociado numerosos sabores desagradables con contaminantes específicos de la leche. Algunos ejemplos son:

- Malta: *S. lactis var maltigenes* (Afzal et al., 2017, p.42)
- Amargo: Bacterias proteolíticas
- Rancio: Bacterias lipolíticas
- Inmundo: bacterias coliformes
- Pescado: *Pseudomonas* (Gram & Melchiorson, 1996, p.21)
- Afrutado: *Pseudomonas* (Delgado Silva & Páramo Aguilera, 2020, p.33)

1.3. Normas INEN para queso y leche cruda

Tabla 5-1. Norma Inen para leche cruda

REQUISITOS	UNIDAD	MIN.	MAX.	MÉTODO DE ENSAYO
Densidad relativa: a 15 °C A 20 °C	-	1,029 1,028	1,033 1,032	NTE INEN 11
Materia grasa	% (fracción de masa) ^d	3,0	-	NTE INEN 12
Acidez titulable como ácido láctico	% (fracción de masa)	0,13	0,17	NTE INEN 13
Sólidos totales	% (fracción de masa)	11,2	-	NTE INEN 14
Sólidos no grasos	% (fracción de masa)	8,2	-	*
Cenizas	% (fracción de masa)	0,65	-	NTE INEN 14
Punto de congelación (punto crioscópico) **	°C °H	-0,536 -0,555	-0,512 -0,530	NTE INEN 15
Proteínas	% (fracción de masa)	2,9	-	NTE INEN 16
Ensayo de reductasa (azul de metileno)***	h	3	-	NTE INEN 018
Reacción de estabilidad proteica (prueba de alcohol)	Para leche destinada a pasteurización: No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 68 % en peso o 75 % en volumen; y para la leche destinada a ultrapasteurización: No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 71 % en peso o 78 % en volumen			NTE INEN 1500
Presencia de conservantes ¹⁾	-	Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de neutralizantes ²⁾	-	Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de adulterantes ³⁾	-	Negativo		NTE INEN 1500
Grasas vegetales	-	Negativo		NTE INEN 1500
Suero de Leche	-	Negativo		NTE INEN 2401
Prueba de Brucelosis	-	Negativo		Prueba de anillo PAL (Ring Test)
RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS ⁴⁾	ug/l	—	MRL, establecidos en el CODEX Alimentarius CAC/MRL 2	Los establecidos en el sumario de métodos de análisis identificados como dónos para respaldar los LMR del codex ⁵⁾

* Diferencia entre el contenido de sólidos totales y el contenido de grasa.
 ** °C= °H - f, donde f= 0,9656
 *** Aplicable a la leche cruda antes de ser sometida a enfriamiento
 1) Conservantes: formaldehído, peróxido de hidrógeno, cloro, hipocloritos, cloraminas, lactoperoxidasa adicionada y dióxido de cloro.
 2) Neutralizantes: orina, carbonatos, hidróxido de sodio, jabones.
 3) Adulterantes: Harina y almidones, soluciones azucaradas o soluciones salinas, colorantes, leche en polvo, suero de leche, grasas vegetales.
 4) Fracción de masa de 3, W₃; Esta cantidad se expresa frecuentemente en por ciento. %. La notación "% (m/m)" no deberá usarse.
 5) Se refiere a aquellos medicamentos veterinarios aprobados para uso en ganado de producción lechera.
 6) Establecidos por el comité del Codex sobre residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos

Fuente: NTE INEN 9: 2012.

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Tabla 6-1. Requisitos microbiológicos para Quesos Frescos.

REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS					
REQUISITO	n	m	M	c	MÉTODO DE ENSAYO
Enterobacterias. UFC/g	5	2x10 ²	10 ³	1	NTE INEN 1529-13
Escherichia coli. UFC/g	5	<10	10	1	AOAC 991.14
Staphylococcus aureus UFC/g	5	10	10 ²	1	NTE INEN 1529-14
Listeria monocytogenes/25g	5	Ausencia	-		ISO 11290-1
SALMONELLA en 25g	5	Ausencia	-	0	NTE INEN 1529-15

Fuente: NTE-INEN 1528, 2012.

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

1.4. Industria láctea

El ganado es un contribuyente significativo a las emisiones antropogénicas globales de metano, un gas de efecto invernadero de vida corta que es responsable de aproximadamente el 20% del calentamiento inducido por los gases de efecto invernadero desde la época preindustrial. India, por ejemplo, es uno de los principales contribuyentes a estas emisiones y su demanda de productos pecuarios aumenta continuamente en respuesta tanto al crecimiento de los ingresos como de la población. Gupta, investigador, estimó las emisiones de metano del ganado en la India mediante la estimación de la demanda de leche y productos lácteos utilizando datos de consumo representativos de todo el país durante el período 1983–2012 (Gupta & Dasgupta, 2020, p.45)

La tasa de crecimiento anual promedio de las emisiones de metano del ganado lechero es aproximadamente el doble (2.4%) que las estimaciones actuales que no toman en cuenta los factores económicos que influyen en la demanda de ganado. La diferencia en las tasas de crecimiento se traduce en una diferencia de casi el 40% en las emisiones pronosticadas del ganado lechero para 2050. Hallazgos sugieren que, en un entorno económico que cambia rápidamente, los pronósticos actuales de emisiones de gases de efecto invernadero provenientes del ganado pueden estimar de manera inexacta las emisiones, ya que no tienen en cuenta la economía que lo gobierna. Estimando las emisiones bajo diferentes escenarios, en términos de trayectorias del precio de la leche y composición del ganado. Los cambios en el precio no alteran los resultados de manera significativa, pero la transición a animales cruzados en el ganado reduce drásticamente las futuras emisiones de metano de la producción de leche.

Błażejowski et al. en su artículo *Reimagining the milk supply chain: Reusable vessels for bulk delivery*, afirman haber analizado el envasado de la leche con el fin de encontrar el recipiente más adecuado, desde el punto de vista medioambiental. La investigación se ha concentrado en envases disponibles comercialmente de 0,5 a 2,5 litros, generalmente hechos de polietileno de alta

densidad, HDPE, por sus siglas en inglés, tereftalato de polietileno (PET), cartones a base de papel o vidrio (Błażejowski et al., 2021, p.13).

Algunos estudios consideran un esquema de reutilización para botellas de vidrio. Si bien es aplicable para la entrega a domicilio, este esquema de reutilización no es práctico para en cafés donde se utilizan grandes volúmenes de leche todos los días; se conoce poca información sobre el transporte de grandes volúmenes de leche en recipientes más grandes, como bidones de acero. El estudio de los autores compara una cadena de suministro de leche propuesta que usa una mezcla de bidones de acero inoxidable reutilizables y botellas de vidrio reutilizables con la cadena de suministro actual que usa botellas de HDPE de un solo uso, para el transporte de leche a 10 cafés pertenecientes a la Universidad de Sheffield. Los autores realizaron una evaluación del ciclo de vida *desde la cuna hasta la tumba*, utilizando datos obtenidos de la universidad mencionada y *Our Cow Molly*, una granja lechera local que entrega leche a la universidad.

En la región amazónica ecuatoriana, la cadena lechera adolece de una coordinación insuficiente entre los actores de la misma. Sablón et al. (2018) realizó un estudio denominado *Milk agro-alimentary chain sustainable development strategy in the conditions of the Ecuadorian Amazon region*, en el cual establecieron una caracterización de la cadena descrita, el diagnóstico de la integración entre los actores y sus debilidades fundamentales. La limitación en la aplicación, según los investigadores, se debió a la baja capacitación y la formación del potencial humano que pertenecen a los actores de la cadena mencionada (Cossío et al., 2018, p.11).

1.4.1. Producción de leche

En 2018 Hanrahan establece un estudio denominado *Factors associated with profitability in pasture-based systems of milk production* en el cual afirma que el pasto es esencial en la producción lechera y destaca que la industria láctea mundial necesita reevaluar los sistemas de producción de leche que se operan a nivel de granja, como sucede artesanalmente en Ecuador, con un enfoque específico en mejorar la eficiencia técnica y la competitividad del sector. El objetivo del estudio mencionado fue cuantificar los factores asociados con los costos de producción, rentabilidad, uso de pastos, y los efectos asociados, en el desempeño financiero de las granjas lecheras, utilizando una base de datos representativa, reconocida internacionalmente, durante un período de 8 años (2008 a 2015), en sistemas basados en pastos. Para examinar los efectos asociados de varios sistemas agrícolas y variables de gestión sobre medidas de desempeño específicas. El autor desarrolló una serie de modelos de regresión múltiple (Hanrahan et al., 2018, p.6). Los factores evaluados incluyeron el uso de pastos [Kg. de materia seca / Ha. y tasa de carga (unidades de ganado / Ha)]; la duración de la temporada de pastoreo, la duración de la temporada de reproducción, el registro de la leche, el tamaño del rebaño, el tamaño de la granja lechera (Ha), la edad del agricultor, la proporción de alimento comprado, % de proteína, % de grasa, Kg de

grasa y proteína de leche por vaca, Kg de grasa y proteína de leche por hectárea e inversión de capital en maquinaria, ganado y edificaciones.

El análisis de regresión múltiple demostró que los costos de producción por hectárea diferían por año, ubicación geográfica, tipo de suelo, nivel de uso de pastos, proporción de alimento comprado, % de proteína, kg de grasa y proteína por vaca, tamaño de la granja lechera, duración de la temporada de reproducción y capital inversión en maquinaria, ganado y construcciones por vaca. Los resultados del análisis revelaron que la ganancia neta de la finca, por hectárea, se asoció con el uso de pastos por hectárea, año, ubicación, tipo de suelo, duración de la temporada de pastoreo, proporción de alimento comprado, % de proteína, Kg. de grasa y proteína por vaca, tamaño de la granja lechera e inversión de capital en maquinaria y edificios por vaca. El uso de pastos por hectárea se asoció con el año, la ubicación, el tipo de suelo, la carga ganadera, el tamaño de la granja lechera, el% de grasa, el% de proteína, los kg de grasa y proteína por vaca, la edad del agricultor, la inversión de capital en maquinaria y edificios por vaca, la duración de la temporada de reproducción y membresía en grupos de discusión. En promedio, durante el período de 8 años, cada tonelada adicional de materia seca de pastos utilizada aumentó el beneficio bruto en 278 € y el beneficio neto en 173 € en las granjas lecheras. Por el contrario, un aumento del 10% en la proporción de *pienso*, comprado en la dieta, resultó en una reducción del beneficio neto por hectárea en 97 € y el beneficio neto en 207 € por tonelada de grasa y proteína. Los resultados del estudio, aunque en un entorno de cuotas limitadas, demostraron que la rentabilidad de los sistemas lácteos, basados en pastos, está significativamente asociada con la proporción de pastos utilizados en la finca, teniendo en cuenta los niveles de alimento comprado.

1.4.2. Producción y PIB

En 2020, Piotr Borawsky publica su estudio *Factors Shaping Cow's Milk Production in the EU*. Cuyo interés primordial se centra en el orden económico de la industria lechera afirmando que el mercado de la leche en la Unión Europea (UE), se está ajustando rápidamente a la eliminación de las cuotas lácteas. Los cambios más importantes, determina el autor, incluyen el aumento de la producción de leche por vaca, el aumento de la producción total de leche, la disminución del número de vacas y la disminución del consumo de leche. El principal objetivo del artículo es examinar los cambios en la producción de leche en la UE. Se investigó la dinámica de los cambios en la producción de leche de granja durante el período 1998-2017 en la UE., además, el impacto de la eliminación de cuotas en la producción de leche en las granjas de los países de la UE para el período 2015-2017. La producción de leche en la UE aumentó de 151 millones de toneladas en 1998 a 165 millones de toneladas en 2017 (un aumento del 10%). Se utilizó un modelo de regresión para probar qué variables explicativas tienen un impacto en la producción de leche en

la UE. Los factores más importantes fueron: el producto interior bruto, el gasto de consumo final de los hogares (precios corrientes, millones de euros) y la población. (Bórawski et al., 2020, p.4).

1.4.3. Una cuestión de evaluación, no de criterialidad

Kilkawley et al., en su investigación de 2018 *Factors Influencing the Flavour of Bovine Milk and Cheese from Grass Based versus Non-Grass Based Milk Production Systems*, publicada en la revista especializada *Foods*, aseguran que ha habido un aumento en el interés en relación con la diferenciación de los productos lácteos derivados de los pastos frente a los sistemas confinados. Según los autores, el impacto de los diferentes tipos de forrajes en las propiedades sensoriales de la leche y el queso es complejo debido a la amplia gama de factores de producción y de explotación que están potencialmente implicados. El principal efecto de la dieta de los pastos sobre las propiedades sensoriales de la leche y el queso bovino es el aumento de la intensidad del amarillo correlacionado con el contenido de β -caroteno, que es un posible biomarcador para los productos lácteos derivados de los pastos. Los investigadores afirman que el pastoreo también influye en el contenido de grasas y ácidos grasos, lo que se ha relacionado con los cambios en la percepción de la textura en la leche y el queso y con el aumento de los ácidos grasos omega-3. Se ha sugerido que los cambios en los ácidos grasos poliinsaturados en la leche y el queso, debido a las dietas de pasto, pueden aumentar la susceptibilidad a la oxidación de lípidos, pero no parece ser un problema debido al aumento de antioxidantes y al ambiente reductor del queso. Parece que la leche y el queso derivados de los pastos son más fáciles de discernir por los consumidores capacitados que la leche derivada de dietas conservadas o concentradas.

La pasteurización de la leche, la inclusión de concentrado en las dietas de los pastos, el tiempo de maduración del queso, se han relacionado con la reducción de los efectos de la dieta de los pastos en la percepción sensorial. Los estudios de evaluación sensorial de la leche y el queso han encontrado, en general, que los evaluadores no capacitados que representan mejor a los consumidores parecen menos capaces de discriminar las diferencias sensoriales que los evaluadores capacitados y que las diferencias en los atributos visuales y de textura tienen más probabilidades de darse cuenta que los atributos del sabor. Esto sugiere que las diferencias sensoriales debidas a la dieta suelen ser sutiles. La evidencia respalda la transferencia directa de algunos volátiles por inhalación o ingestión, pero más aún con la transferencia indirecta de componentes dietéticos posteriores al metabolismo del rumen.

El impacto de los volátiles de la dieta en la percepción sensorial de la leche (hablando de los evaluadores), y los productos lácteos dependen, obviamente, de su concentración y actividad de olor, sin embargo, se han realizado muy pocos estudios cuantitativos al respecto. Algunos estudios han resaltado la correlación potencial de los pastos con atributos sensoriales mejorados de "granero" o "vaquero" y posteriormente los han relacionado con la acumulación de p-cresol del

metabolismo del β -caroteno y aminoácidos aromáticos o posiblemente isoflavonas en el rumen (Kilcawley et al., 2018, p.10).

También se ha sugerido que el p-cresol es un biomarcador potencial para los productos lácteos derivados de los pastos. Otros estudios han relacionado los terpenos con propiedades sensoriales específicas en la leche y el queso, pero esto solo parece ser relevante en la leche y el queso derivados de pastos silvestres sin semillas donde se acumulan altas concentraciones, ya que su umbral de olor es bastante alto. El tolueno, también un producto del metabolismo del β -caroteno, ha sido identificado como un biomarcador potencial para los productos lácteos derivados del pasto, pero tiene poco impacto en la percepción sensorial debido a su alto umbral de olor. La dimetilsulfona se ha relacionado con las dietas de los pastos y podría influir en la percepción sensorial ya que su umbral de olor es bajo. Otros estudios han relacionado la presencia de maíz y legumbres (trébol) en el ensilaje con impactos sensoriales adversos en la leche y el queso. Se requiere mucha más investigación para definir los impactos clave relacionados con la dieta en el sabor de la leche y el queso.

1.4.4. Mejor economía mundial, mayor demanda

La visión sueca se alinea a las perspectivas de las Naciones Unidas sobre la demanda alimentaria hasta 2030. Kizsan et al., en su artículo llamado *Sustainability aspects of milk production in Sweden*, de 2021, publicada en la revista *Grass and forage Science*, establecen que, la eficiencia en el uso de recursos y las iniciativas económicas apuntan a utilizar menos insumos comestibles para los humanos en la producción de alimentos para rumiantes⁴. Esto también podría promover los productos lácteos ricos en nutrientes entre los consumidores en comparación con las bebidas alternativas a base de plantas. La población mundial está creciendo y la producción de alimentos deberá aumentar para alimentar a más personas en el futuro. El gobierno sueco ha lanzado una estrategia alimentaria nacional, cuyo objetivo es impulsar la producción alimentaria sueca hacia la autosuficiencia y la sostenibilidad, y mayores exportaciones. Al mismo tiempo, el fuerte desarrollo económico ha estimulado a los consumidores a solicitar más alimentos de alto valor, como la carne y los productos lácteos refinados. Al mismo tiempo, la opinión pública afirma que la producción actual de alimentos a partir de rumiantes es negativa para el medio ambiente y contribuye al cambio climático. Esta revisión evalúa algunos aspectos de la composición de los ingredientes dietéticos y las opciones de alimentación que pueden contribuir a que la producción láctea sueca sea más sostenible. Las estrategias eficientes de mitigación del metano en la dieta pueden reducir las emisiones de gases de efecto invernadero de acuerdo con los objetivos de la Unión Europea y evitar cambios importantes en los patrones de consumo

⁴ Es decir que el consumo de substitutos de los productos lácteos disminuirá con el tiempo.

dietético de carne y leche de rumiantes. Aunque el manejo de la alimentación parece ser el enfoque más importante para disminuir las pérdidas de nitrógeno, también se debe considerar el uso racional de fertilizantes y mejores prácticas de manejo del estiércol en las granjas lecheras para disminuir el impacto de las pérdidas de nitrógeno en el medio ambiente (Krizsan et al., 2021, p.44).

1.4.5. Producción en el Ecuador, las cifras

En el caso ecuatoriano, para 2020, existen alrededor de 270 mil productores de leche. Derivado de esta industria se benefician aproximadamente 1 millón 300 mil personas. En Ecuador se producen, diariamente 6, 6 millones de litros diarios de este producto. El crecimiento de la demanda de la leche es del 4,7% mensual y, en tiempo de pandemia, aumentó en un 22% (Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador, 2020, p.1).

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA

2.1. Lugar de la Investigación

Evaluación de la calidad microbiológica del queso fresco artesanal a través de su cadena de comercialización, producidos en una quesera artesanal del cantón mocha de la provincia de Tungurahua y comercializados en una ciudad de la provincia del Guayas; es el proyecto de investigación de SAGID.

El estudio fue realizado en una quesería artesanal, ubicada en la parroquia Mocha, cantón Ambato, provincia de Tungurahua. El tamaño de la muestra corresponde al producto terminado y recién elaborado, siendo estos los quesos frescos. Las muestras de producto terminado, muestreo por conveniencia, después del transporte y listas para ser comercializadas, se tomaron en la quesera y en el lugar de comercialización en la ciudad de Durán, provincia del Guayas.

La población de estudio corresponde a los quesos frescos elaborados en la quesera artesanal del Cantón Mocha y comercializados en la ciudad de Durán provincia del Guayas, como fue antes descrito; la muestra se tomó de los puntos críticos como: materia prima, producto final, llegada al mercado de la ciudad de Durán y sitios de comercialización directa a usuarios finales.

Los ensayos físico-químicos y análisis microbiológicos de las muestras se llevaron a cabo en el laboratorio del grupo de investigación *SAGID*; laboratorio de microbiología y en los laboratorios de Bromatología y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2. Población

La población de estudio es indeterminada, siendo el objeto de estudio los quesos frescos artesanales rectangulares de 250g, producidos los días jueves en la quesera artesanal y expandida los días viernes en el mercado de la cuarta etapa de la ciudad de Durán.

2.3. Muestra

Las muestras de queso fresco artesanal fueron recolectadas, posterior a su elaboración, de la quesera artesanal ubicada en el cantón Mocha de la provincia de Tungurahua. Las muestras, correspondientes a 36 quesos, se tomaron en la misma quesera, tomando en cuenta que el muestreo se realizó desde la materia prima, en este caso la leche, y el producto final, el queso,

seguido del muestreo al momento de su llegada al mercado de Durán. Además, cabe mencionar también, se tomaron muestras de queso en los diferentes lugares de comercialización.

El muestreo se realizó durante un mes, entre enero y febrero, los viernes en la planta de producción y domingo, después del transporte, en el lugar de comercialización.

2.4. Método de muestreo

Se aplicó un muestreo no probabilístico, por conveniencia, con base a los objetivos planteados.

2.5. Diseño: No experimental

2.6. Nivel de la investigación: Relacional

2.7. Enfoque

Cualitativo-cuantitativo

2.8. Técnicas e instrumentos de recogida de datos

Técnica: observación

Instrumento: inventario

2.9. Técnicas de procesamiento de datos

Análisis de correspondencias múltiples

Pruebas de normalidad

Reducción de factores

Métodos de investigación

Científico

2.10. Lógica de investigación

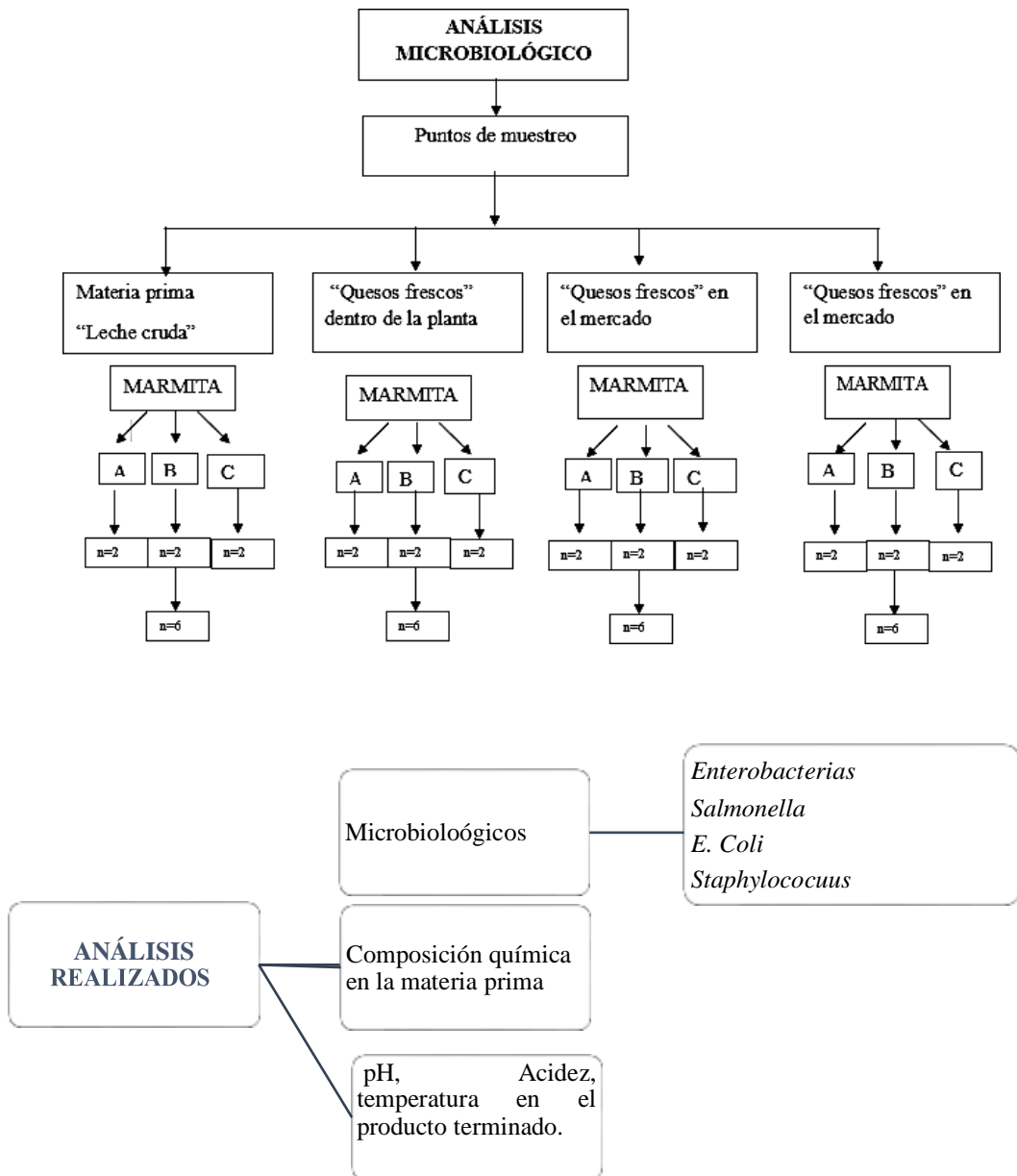


Gráfico 1-2. Proceso de la toma de muestra en los diferentes puntos de muestreo.

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Según la norma NTE INEN 1528 se analizó: *Enterobacterias*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella*.

2.11. Materiales, quipos y reactivos

2.11.1. Materia prima

- Leche
- Queso fresco

2.11.2. Materiales

Tabla 1-2. Material Utilizado

MATERIALES		REACTIVOS
<ul style="list-style-type: none"> ● Envase estéril ● Espátula estéril ● Caja Petri ● Pipetas ● Puntas para Micropipetas ● Vasos de precipitación ● Erlenmeyer ● Reverbero ● Papel aluminio ● Cinta masking ● Gradilla ● Pera ● Probeta ● Tubos de ensayo ● Tubos Durham ● Fundas de basura negras y rojas. ● Cepillos de tubos y vasos. ● Azas. ● Porta objetos ● Pizeta ● Mecheros ● Culers herméticos y Geles congelantes 	<ul style="list-style-type: none"> ● Balanza ● Estufa ● Autoclave ● Incubadora ● Cámara de flujo laminar ● Refrigeradora ● Baño maría ● Centrifuga ● Ecomilk ● pH metro ● Microscopio ● Termómetro ● Medidor de actividad de agua 	<ul style="list-style-type: none"> ● Agua peptona ● Caldo Verde Bilis Brillante ● Agar Manitol ● Agar SS ● Agar Eosina ● Agar Tetrionato ● Solución Yodo-Yoduro ● Caldo cerebro corazón. ● Tetrionato más Yodo-Yoduro ● Kligler ● Urea ● Reactivo de Urea ● SIM ● Citrato ● Manitol ● Reactivo de kovacs ● Tinción gram. ● Agua destilada ● Alcohol ● Agua oxigenada ● Suero sanguíneo

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

2.12. Técnicas y métodos

2.12.1. Protocolo de muestreo

Dentro del primer grupo de muestreo se receiptó leche como materia prima. En el segundo grupo de muestreo se recolectó en la planta de la quesera artesanal ubicada en el cantón Mocha, misma que se transportó en cadena de frío hasta el laboratorio, donde se realizaron los análisis microbiológicos y físico-químicos. Cabe mencionar también, que se observó dentro de la quesera el proceso de elaboración de los quesos frescos, alrededor de las 8:00am hasta las 16:00 pm, horario de producción de la planta. Se etiquetó el lote pertinente a los quesos que fueron enviados a la ciudad de Durán de la provincia de Guayas, con el fin de rastrearlos hasta su llegada al mercado para su comercialización.

El tercer grupo de muestras se recolectó en el mercado de la cuarta etapa en la ciudad de Durán. Finalmente, el cuarto grupo de muestras se tomó, adquiriéndola directamente de los vendedores en el mercado. De la misma manera, se mantendrán en cadena de frío hasta su transporte a la ciudad de Riobamba para la ejecución de los análisis en el laboratorio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. La determinación de temperatura se realizó al momento de la recolección de cada grupo de las muestras.

Las técnicas de recolección de datos para la toma de muestra de quesos frescos se realizaron según los criterios de la Norma NTE-INEN 1529-2, en donde describe el control microbiológico de alimentos.

Para la recolección de las muestras se deberá emplear utensillos de acero inoxidable o de un material que no provoque ningún tipo de cambio o modificación en las características del producto, además, deben ser resistentes a temperaturas de esterilización, impermeables al agua y las grasas. También deben estar completamente limpios, secos y esterilizados para evitar la contaminación de la misma. Los recipientes para la muestra deben ser de boca ancha con tapa rosca en un material resistente a golpes.

A continuación, se describen las técnicas que se emplearán en la recolección de datos:

2.12.1.1. Productos sólidos

En el caso de productos sólidos, cuando la capa superficial no hace parte de la muestra, retirar del área de muestreo con una espátula, cuchillo o cuchara estériles, hasta no menos de 5mm de profundidad y tomar la muestra con otro instrumento estéril.

2.12.1.2. Productos líquidos

Evitando contaminar el contenido, mezclar los productos líquidos cuidadosamente con un cucharón estéril o mecánicamente, hasta que el producto esté totalmente mezclado; inmediatamente después de la muestra, con un cucharón estéril y asépticamente transferir a un envase estéril, una cantidad no inferior a 100 cm³.

2.12.2. Composición química

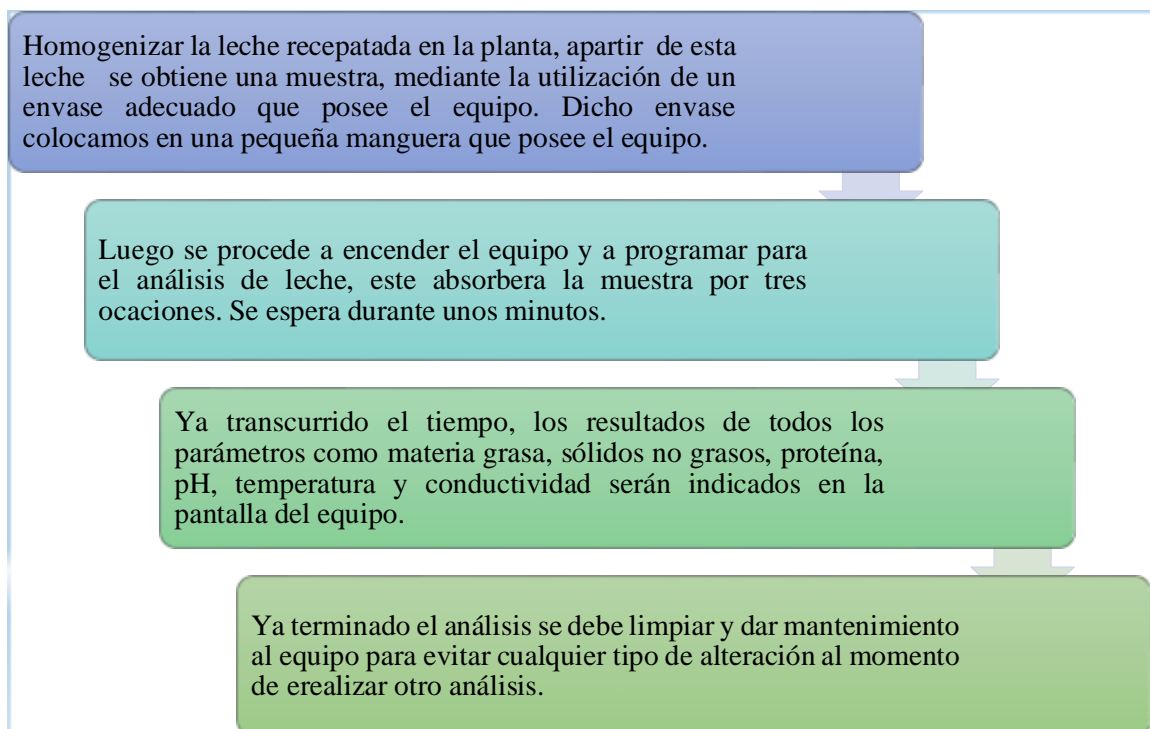


Gráfico 2-2. Calidad de la Leche mediante el equipo Ecomilk.

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

2.12.3. Análisis de acidez titulable

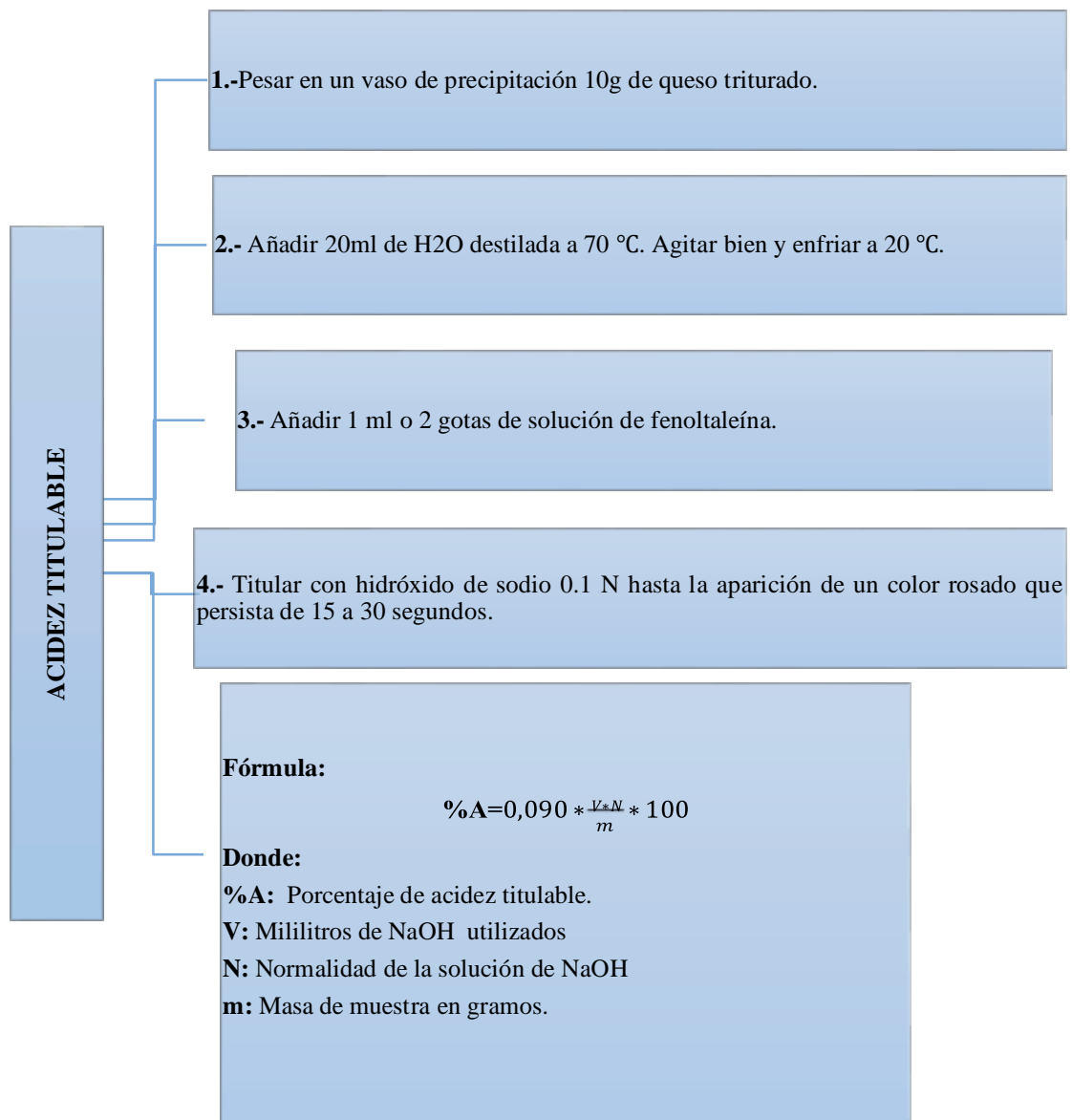


Gráfico 3-2. Análisis de acidez titulable

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

2.12.4. Análisis de pH

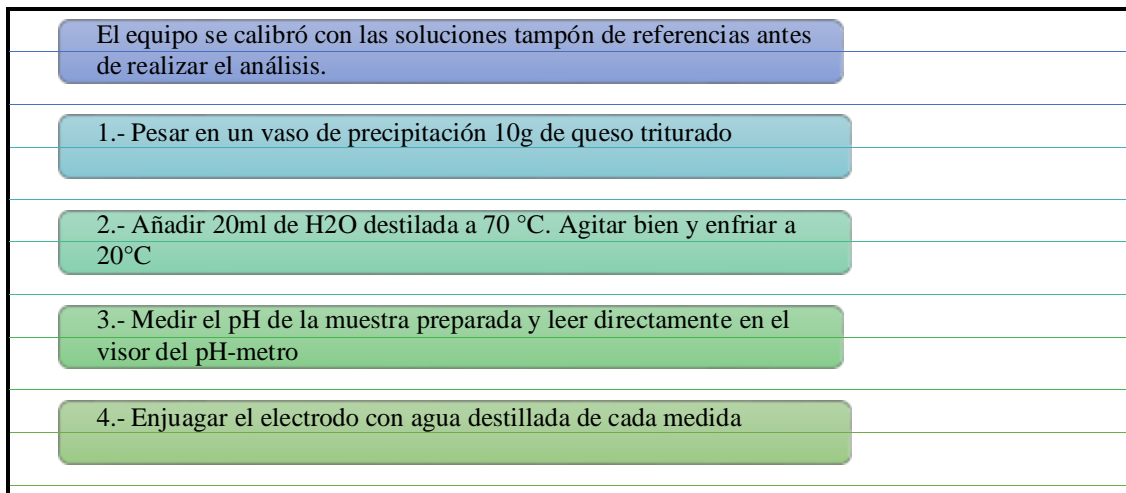


Gráfico 4-2. Análisis de pH

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

2.12.5. Análisis de actividad de agua

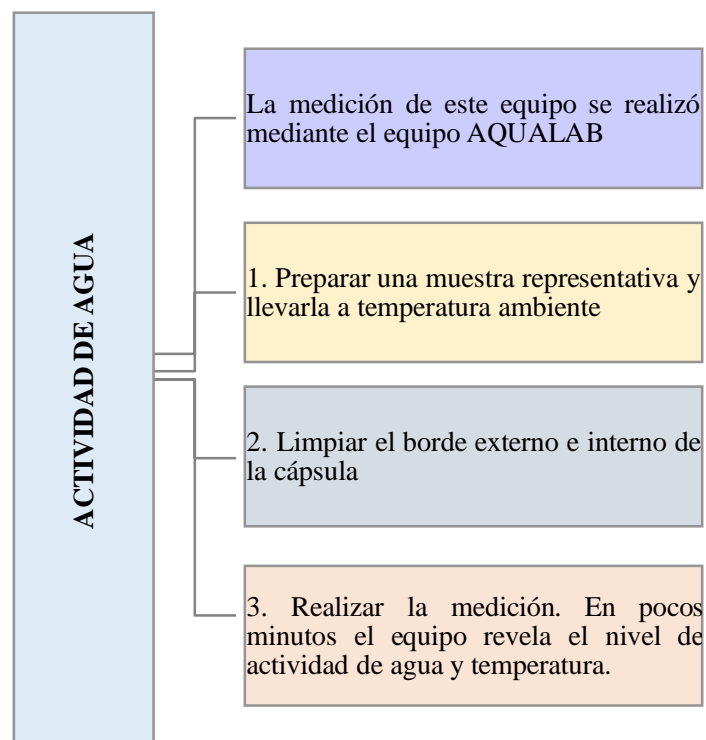


Gráfico 5-2. Análisis de actividad de agua

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

2.12.6. Análisis de temperatura

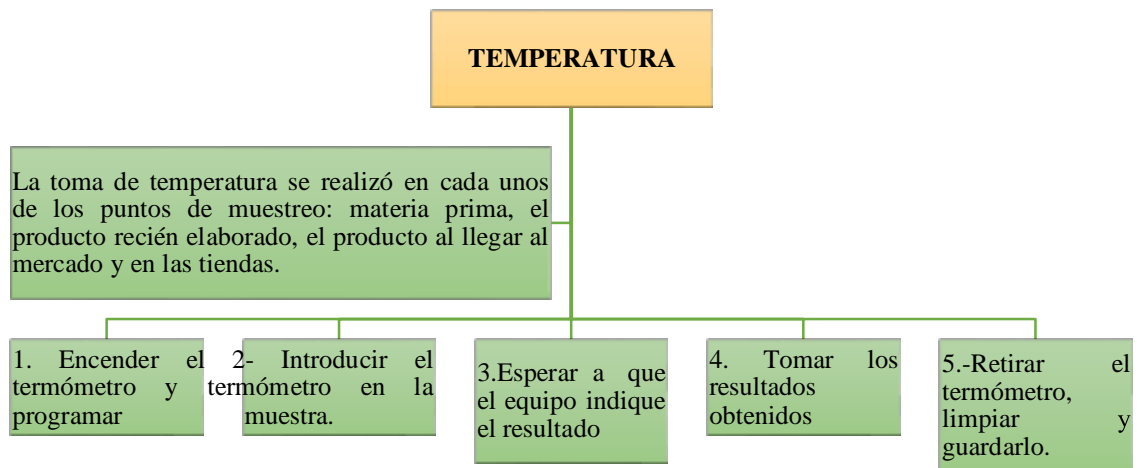


Gráfico 6-2. Análisis de Temperatura

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

2.12.7. Análisis microbiológicos

2.12.7.1. Preparación de agua peptona, para leche y queso

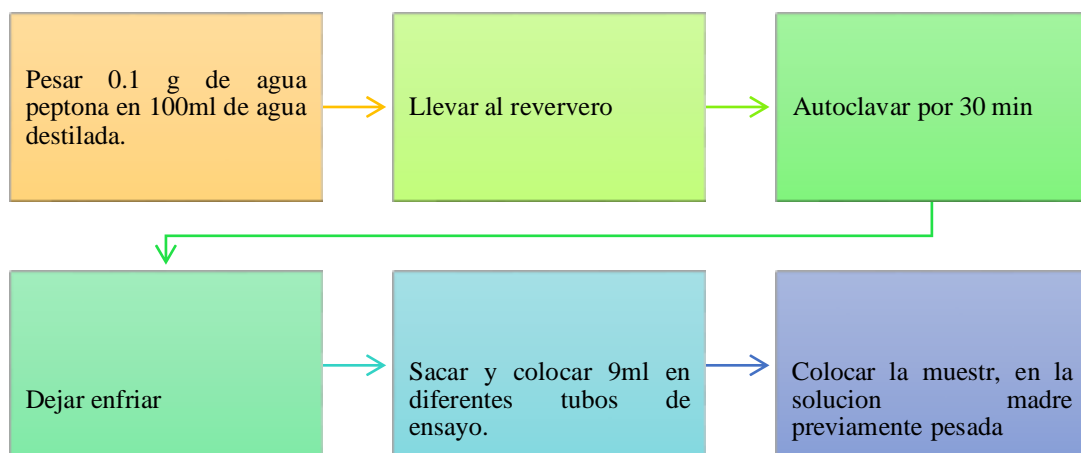


Gráfico 7-2. Preparación de agua peptona (Solución Madre)

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

2.12.7.2. Determinación de coliformes totales por la técnica del número más probable (NTE INEN;1529-6)

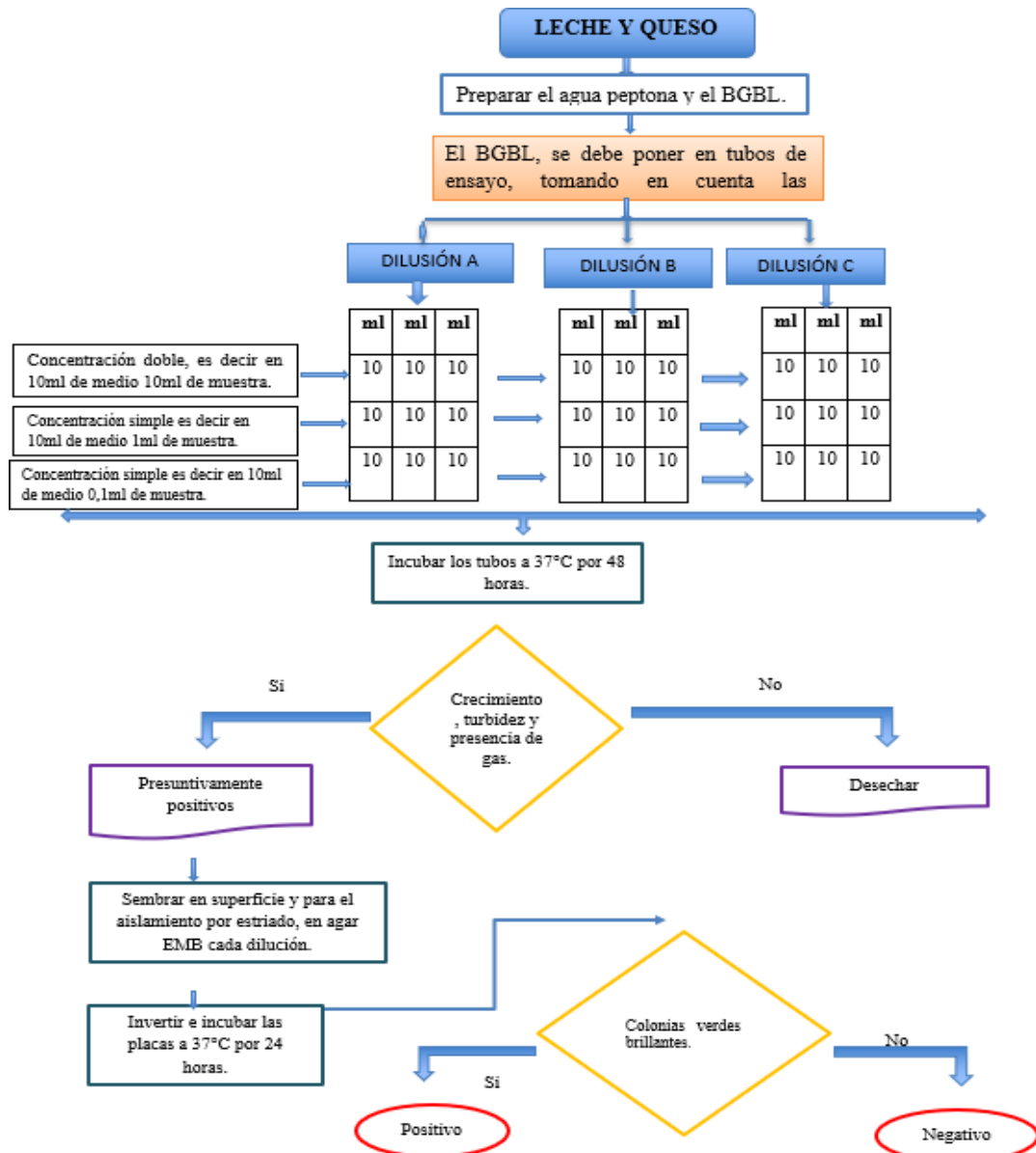


Gráfico 8-2. Determinación de coliformes totales

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

2.12.7.3. Determinación e identificación de *Escherichia coli* (NTE INEN;1529-8)

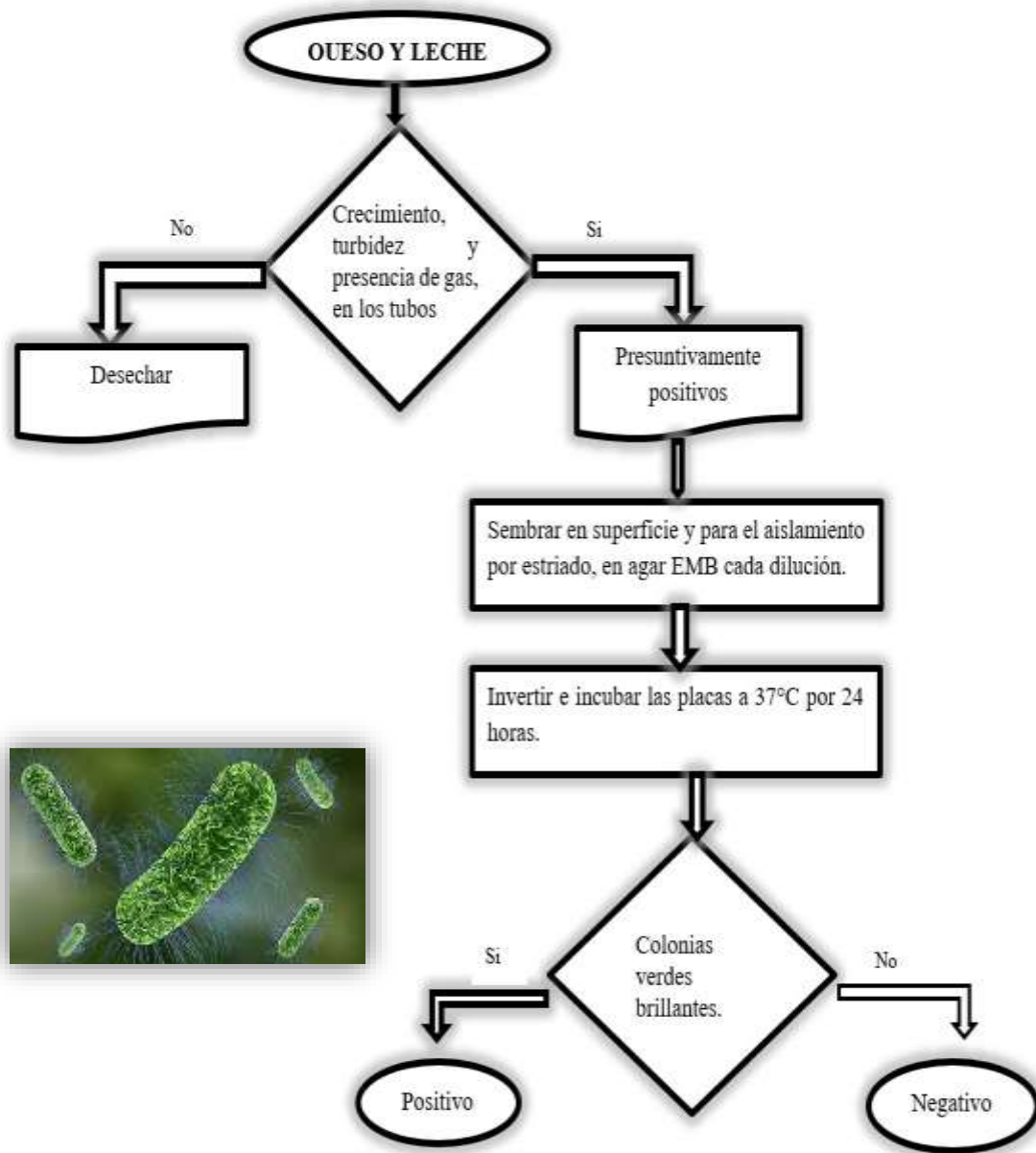


Gráfico 9-2. Determinación e identificación de *Escherichia coli*.

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

2.12.7.4. Determinación de aerobios mesófilos

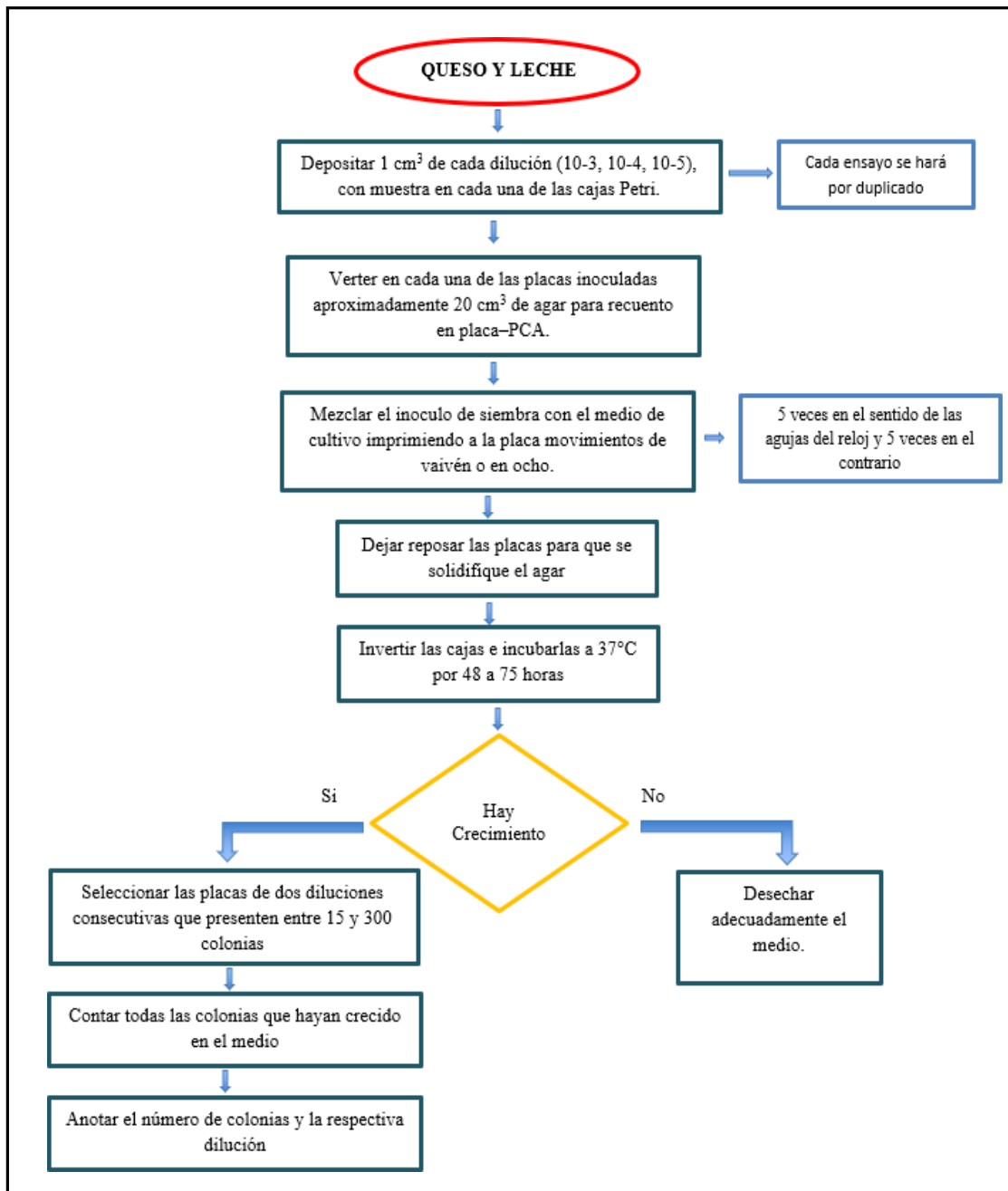


Gráfico 10-2. Determinación de aerobios mesófilos

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

2.12.7.5. Determinación e identificación de salmonellas

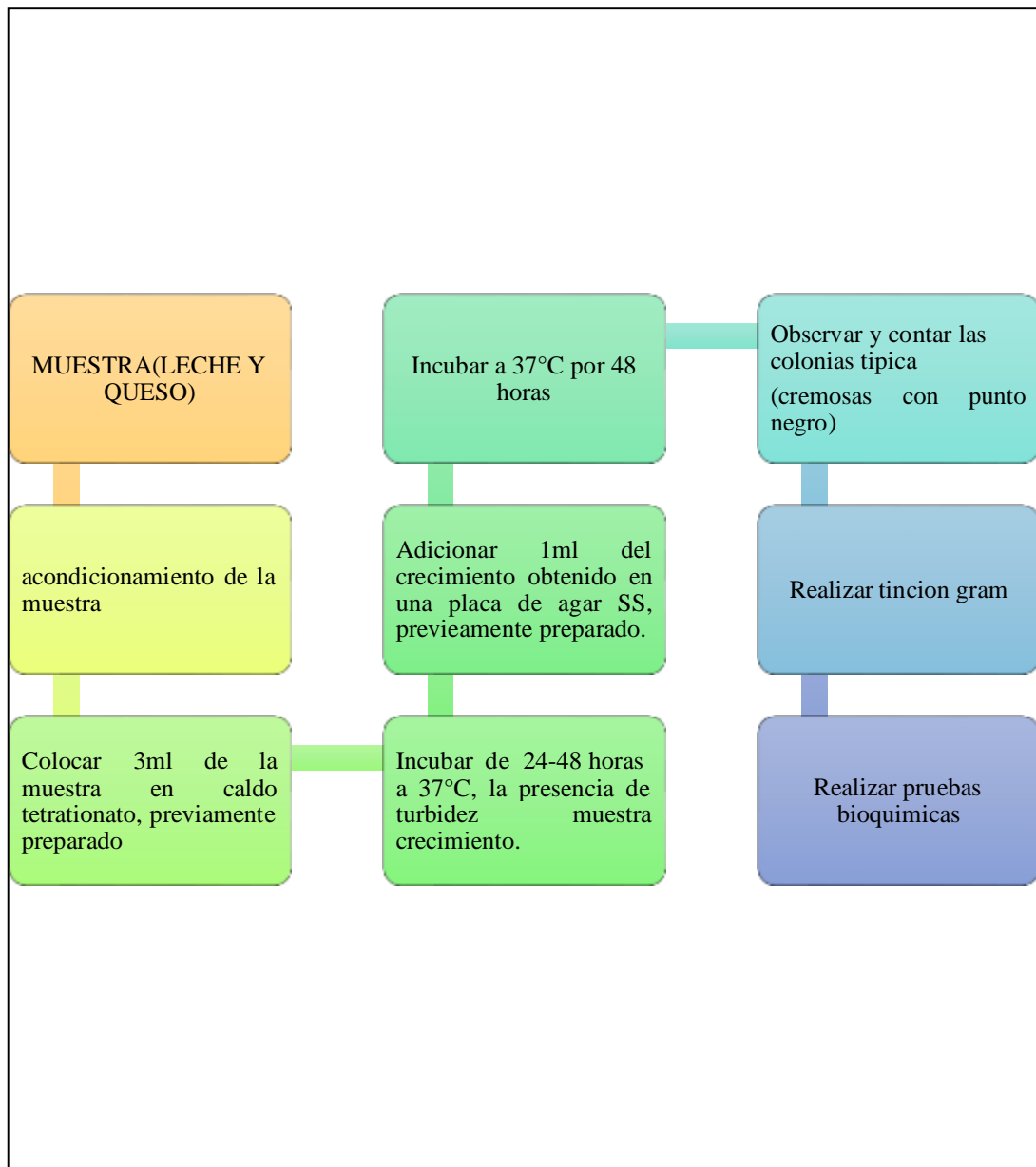


Gráfico 11-2. Determinación e identificación de salmonella (oxid)

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

2.12.7.6. Determinación de *Staphylococcus aureus*

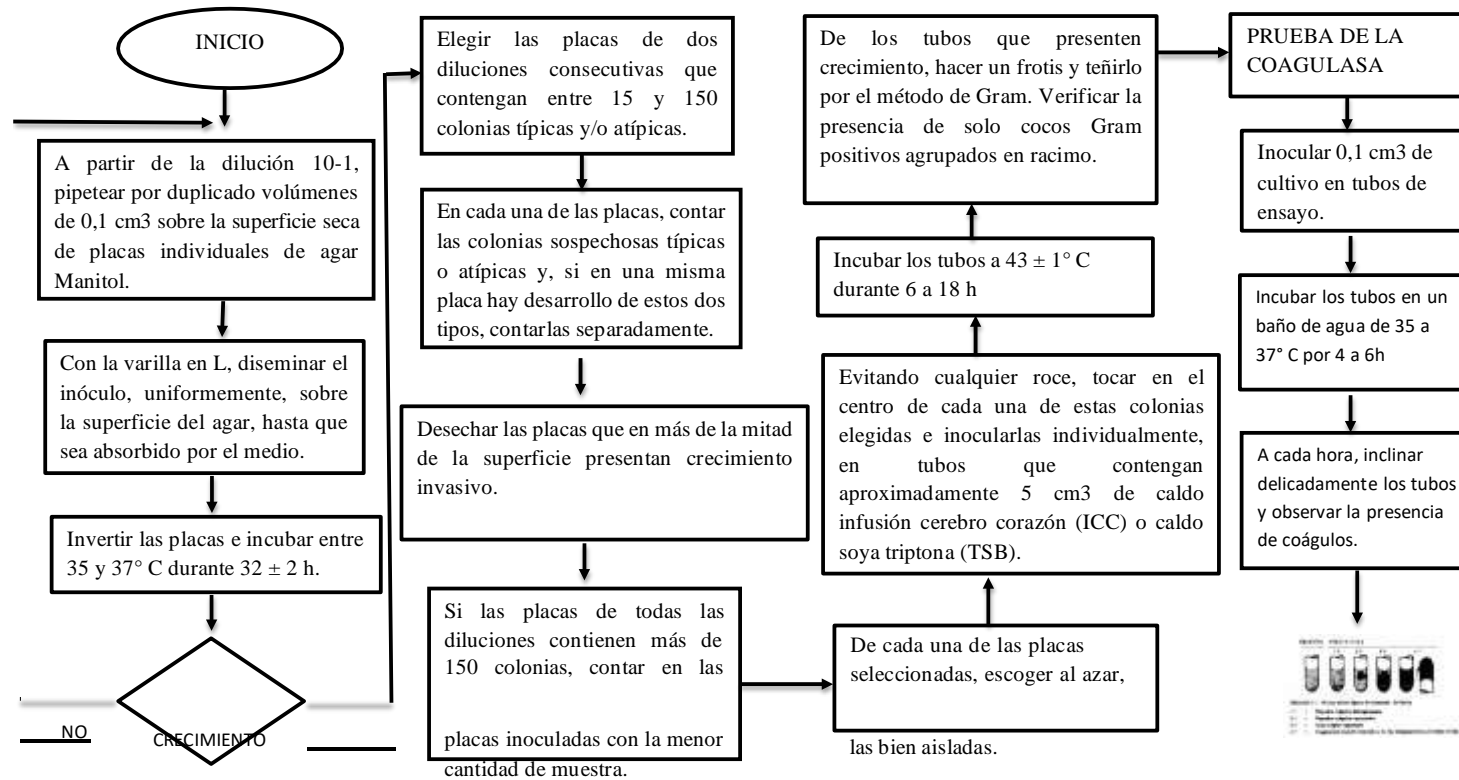


Gráfico 12-2. Organigrama de recuento en placa de siembra por extensión en superficie. *Staphylococcus aureus*

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1. Datos obtenidos

3.1.1. *Materia prima leche cruda*

Tabla 1-3. Datos obtenidos del análisis microbiológico de *coliformes totales*, mediante Numero Más Probable (NMP)

MICROORGANISMO ANALIZADO: <i>Coliformes Totales</i> (UFC/g)													
QUESERA		NÚMERO DE MUESTREO											
		PRIMER MUESTREO						SEGUNDO MUESTREO					
		Diluciones						Diluciones					
		10 ⁻³	NMP	10 ⁻⁴	NMP	10 ⁻⁵	NMP	10 ⁻³	NMP	10 ⁻⁴	NMP	10 ⁻⁵	NMP
MARMITA A/UFC;	10ml	1	6,1	0	<1,8	0	<1,8	1	6,1	1	6,1	1	6,1
	1ml	1		0		0		1		1		1	
	0,1ml	1		0		0		1		1		1	
MARMITA B/UFC;	10ml	1	6,1	0	1,8	1	6,1	1	4	1	4	1	4
	1ml	1		0		1		1		0		0	
	0,1ml	1		1		1		0		1		1	
MARMITA C/UFC;	10ml	1	4	1	6,1	1	6,1	1	4	1	2	1	4
	1ml	0		1		1		1		0		1	
	0,1ml	1		1		1		0		0		0	

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira Carla; Guaranga Fátima. 2021.

Tabla 2-3. Datos obtenidos del análisis microbiológico de leche cruda: *aerobios mesófilos*, *Staphylococcus aureus*, *salmonella* y *E. coli*

Según el número de UFC/g.																										
Muestra Leche cruda	<i>Aerobios mesófilos</i>						<i>Staphylococcus aureus</i>						<i>Salmonella</i>						<i>E. coli</i>							
	Numero de muestreo						Numero de muestreo						Numero de muestreo						Numero de muestreo							
	1 ^{er} Muestreo			2 ^{do} Muestreo			1 ^{er} Muestreo			2 ^{do} Muestreo			1 ^{er} Muestreo			2 ^{do} Muestreo			1 ^{er} Muestreo			2 ^{do} Muestreo				
	Diluciones			Diluciones			Diluciones			Diluciones			Diluciones			Diluciones			Diluciones			Diluciones				
10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵		10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵		
Marmita "A" UFC;	11	2	7	10	3	25	2	0	1	6	3	1	P	P	P	P	P	Au.	10ml	>300	288	175	>300	260	174	
	4	3		7	1														1ml	262	185	106	292	243	132	
																				0,1 ml	94	54	33	290	244	117
Marmita "B" UFC;	96	2	9	10	3	12	3	1	0	5	3	1	P	P	Au	P	P	P	10ml	300	271	123	288	182	142	
		6		1	4										.					1ml	277	228	133	259	154	103
																				0,1 ml	234	206	127	223	192	111
Marmita "C" UFC;	11	6	1	10	6	19	2	0	0	8	2	1	P	P	P	P	P	Au.	10ml	297	249	197	299	187	111	
	6	3	0	5	1															1ml	287	228	171	283	179	106
																				0,1 ml	265	250	171	265	165	105

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Tabla 3-3. Datos obtenidos del análisis microbiológico de pruebas API para salmonella. (25 g)

Pruebas API para <i>salmonella</i> .																
MUESTRA	MARMITA	DISOLUCIÓN	SIM (SULFURO DE INDOL PARA MOVILIDAD)				CITRATO		KLIGLER				MANITOL	UREA		
			MOVILIDAD	SH2	INDOL/CR ECIMEN TO	GAS	POSITIVO	NEGATIVO	GLUCOSA	GAS/GLUCOSA	LACTOSA	SH2	CRECIMIENTO/ COLOR	POSITIVO	NEGATIVO	
MUESTREO 1	A	10-3	-	-	-	No Satisfactorio	+		-	+	+	+	-	Positivo		-
	B	10-3	+	+	-	Satisfactorio	+		-	+	+	-	-	Positivo	+	
	C	10-5	+	-	-	Satisfactorio	+		-	+	+	-	-	Positivo	+	
MUESTREO 2	A	10-4	+	+	-	Satisfactorio	+		-	+	+	-	-	Positivo		-
	B	10-3	+	-	+	Satisfactorio	+		-	+	+	+	-	Negativo		-
	C	10-3	+	+	-	Satisfactorio	+		-	*	*	*	-	Negativo		-

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Tabla 4-3. Datos obtenidos de los análisis microbiológicos; API *E. Coli* (UFC/g)

Pruebas API para <i>E. Coli</i> (UFC/g)														
MUESTRA	MARMITA	DISOLUCIÓN	SIM				CITRATO		KLIGLER			MANITOL	UREA	
			MOVILIDAD	SH ₂	INDOL/CRECIMIENTO		CRECIMIENTO	COLOR	SUPERFICIE/PROFUNDIDAD	PRODUCCIÓN DE GAS	SH ₂	CRECIMIENTO/COLOR	POSITIVO	NEGATIVO
Leche cruda	A	10-3	+	-	-	Satisfactorio	Negativo	Verde	Amarillo/Amarillo Glucosa/Lactosa	+	-	+	-	
Leche cruda	A	10-5	+	+	-	Satisfactorio	Negativo	Verde	Amarillo/Amarillo Glucosa/Lactosa	-	+	+		+
Leche cruda	B	10-3	+	-	+	Satisfactorio	Negativo	Verde	Amarillo/Amarillo Glucosa/Lactosa	+		+		+
Leche cruda	B	10-5	+	+	-	Satisfactorio	Negativo	Verde	Amarillo/Amarillo Glucosa/Lactosa	Descartado	+	-		+
Leche cruda	C	10-3	+	-	+	Satisfactorio	Negativo	Verde	Amarillo/Amarillo Glucosa/Lactosa	+	-	+		+
Leche cruda	C	10-5	+	-	+	Satisfactorio	Negativo	Verde	Amarillo/Amarillo Glucosa/Lactosa	+	-	+		+

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Tabla 5-3. Datos obtenidos de la identificación de *Staphylococcus aureus*

Identificación de <i>Staphylococcus aureus</i>																							
1^{er} Muestreo												2^{do} muestreo											
Muestra						Duplicado						Muestra						Duplicado					
MARMIT A A 10⁻³		MARMIT A B 10⁻³		MARMIT A C 10⁻³		MARMIT A A 10⁻³		MARMIT A B 10⁻³		MARMIT A C 10⁻³		MARMIT A A 10⁻³		MARMIT A B 10⁻³		MARMIT A C 10⁻³		MARMIT A A 10⁻³		MARMIT A B 10⁻³		MARMIT A C 10⁻³	
c. típicas		c. típicas		c. típicas		c. típicas		c. típicas		c. típicas		c. típicas		c. típicas		c. típicas		c. típicas		c. típicas		c. típicas	
Calatasa		Coagulasa		Calatasa		Coagulasa		Calatasa		Coagulasa		Calatasa		Coagulasa		Calatasa		Coagulasa		Calatasa		Coagulasa	
Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

3.1.2. Queso fresco, Quesera

Tabla 6-3. Datos obtenidos del análisis microbiológico de *coliformes totales*, mediante Numero Más Probable (NMP) en 1 g de muestra cuando se usan 3 tubos con porciones de 0.1, 1,0 y 10,0 ml.

Coliformes Totales (UFC/g)													
QUESERA		NÚMERO DE MUESTREO											
		PRIMER MUESTREO						SEGUNDO MUESTREO					
		Diluciones						Diluciones					
		10 ⁻³	NMP	10 ⁻⁴	NMP	10 ⁻⁵	NMP	10 ⁻³	NMP	10 ⁻⁴	NMP	10 ⁻⁵	NMP
MARMITA A	10ml	1	6,1	1	6,1	1	4	0	3,6	0	1,8	1	6,1
	1ml	1		1		1		1		0		1	
	0,1ml	1		1		0		1		1		1	
MARMITA B	10ml	1	2	1	2	1	4	1	6,1	1	4	1	2
	1ml	0		0		1		1		1		0	
	0,1ml	0		0		0		1		0		0	
MARMITA C	10ml	1	4	0	1,8	0	1,8	1	6,1	1	2	0	<1,8
	1ml	0		1		0		1		0		0	
	0,1ml	1		0		1		1		0		0	

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Tabla 7-3. Datos obtenidos del análisis microbiológico quesos frescos: *aerobios mesófilos*, *Staphylococcus aureus*, *salmonella* y *E. coli*

Cuantificación de UFC/g de los siguientes microorganismos																												
Muestra Queso Quesera	<i>Aerobios mesófilos</i>						<i>Staphylococcus aureus</i>						<i>Salmonella</i>						<i>E. coli</i>									
	Numero de muestreo						Numero de muestreo						Numero de muestreo						Numero de muestreo									
	1 ^{er} Muestreo			2 ^{do} Muestreo			1 ^{er} Muestreo			2 ^{do} Muestreo			1 ^{er} Muestreo			2 ^{do} Muestreo			1 ^{er} Muestreo			2 ^{do} Muestreo						
	Diluciones			Diluciones			Diluciones			Diluciones			Diluciones			Diluciones			Diluciones			Diluciones						
10 ⁻³			10 ⁻⁴			10 ⁻⁵			10 ⁻³			10 ⁻⁴			10 ⁻⁵			10 ⁻³			10 ⁻⁴			10 ⁻⁵				
Microorganismos																												
Marmita "A" UFC;	18	95	1	27	22	33	1	1	1	9	6	1				Au	Au	Au	Au	Au	Au		10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
	7			9	9																	10ml	297	207	147	30	217	144
																						1ml	241	107	17	26	137	76
																					0,1ml	115	56	11	16	88	54	
Marmita "B" UFC;	22	54	38	20	71	14	9	4	2	7	1	1				Au	Au	Au	Au	Au	Au		10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
	1			7																		10ml	297	234	148	29	217	144
																						1ml	244	146	77	25	137	78
																					0,1ml	149	115	44	11	81	39	
Marmita "C" UFC;	22	10	38	62	21	22	5	2	1	6	3	1				Au	Au	Au	Au	Au	Au		10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
	5	0																				10ml	297	237	127	29	189	133
																						1ml	243	114	67	22	114	71
																					0,1ml	127	81	33	11	65	33	

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

3.1.3. Queso fresco, mercado

Tabla 8-3. Datos obtenidos del análisis microbiológico de coliformes totales, mediante Numero Más Probable (NMP) en 1 g de muestra cuando se usan 3 tubos con porciones de 0.1, 1,0 y 10,0 ml.

MICROORGANISMO ANALIZADO: Coliformes Totales (UFC/g)													
QUESO MERCADO		NÚMERO DE MUESTREO											
		PRIMER MUESTREO						SEGUNDO MUESTREO					
		Diluciones						Diluciones					
		10 ⁻³	NMP	10 ⁻⁴	NMP	10 ⁻⁵	NMP	10 ⁻³	NMP	10 ⁻⁴	NMP	10 ⁻⁵	NMP
MARMITA A	10ml	1	4	1	2	1	2	0	1,8	0	<1,8	0	3,6
	1ml	0		0		0		0		1			
	0,1ml	1		0		0		1		0		1	
MARMITA B	10ml	1	4	1	4	1	2	1	6,1	1	2	1	2
	1ml	1		0		0		1		0		0	
	0,1ml	0		1		0		1		0		0	
MARMITA C	10ml	1	6,1	1	4	1	4	1	4	1	2	0	<1,8
	1ml	1		1		0		0		0		0	
	0,1ml	1		0		1		1		0		0	

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira Carla; Guaranga Fátima. 2021.

Tabla 9-3. Datos obtenidos del análisis microbiológico quesos frescos: *aerobios mesófilos*, *Staphylococcus aureus*, *salmonella* y *E. coli*

Cuantificación de UFC/g de los siguientes microorganismos																										
Muestra Queso Mercado	<i>Aerobios mesófilos</i>						<i>Staphylococcus aureus</i>						<i>Salmonella</i>						<i>E. coli</i>							
	Numero de muestreo						Numero de muestreo						Numero de muestreo						Numero de muestreo							
	1 ^{er} Muestreo			2 ^{do} Muestreo			1 ^{er} Muestreo			2 ^{do} Muestreo			1 ^{er} Muestreo			2 ^{do} Muestreo			1 ^{er} Muestreo			2 ^{do} Muestreo				
	Diluciones			Diluciones			Diluciones			Diluciones			Diluciones			Diluciones			Diluciones			Diluciones				
Microorganismo	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵		10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	
Marmita "A" UFC;	15	96	1,2	25	21	29	1	1	1	9	4	1	P	P	P	P	P	P	10ml	286	21	127	30	21	13	
	8			6	8														1ml	214	10	15	23	12	71	
																				0,1 ml	151	53	10	12	98	51
Marmita "B" UFC;	21	65	28,5	20	61	18	8	5	2	7	1	1	P	P	P	P	P	P	10ml	279	23	138	25	21	12	
	9			0															1ml	234	13	67	21	10	76	
																				0,1 ml	134	10	34	10	98	29
Marmita "C" UFC;	20	98	35	61	19	20	6	3	1	5	2	1	P	P	P	P	P	P	10ml	256	22	117	22	17	11	
	3																		1ml	234	10	64	22	10	51	
																				0,1 ml	145	51	31	11	64	43

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

3.1.4. Queso fresco, Tienda

Tabla 10-3. Datos obtenidos del análisis microbiológico de coliformes totales, mediante Numero Más Probable (NMP) en 1 g de muestra cuando se usan 3 tubos con porciones de 0.1, 1,0 y 10,0

Coliformes Totales (UFC/g)													
TIENDA		NÚMERO DE MUESTREO											
		PRIMER MUESTREO						SEGUNDO MUESTREO					
		Disoluciones						Disoluciones					
		10 ⁻³	NMP	10 ⁻⁴	NMP	10 ⁻⁵	NMP	10 ⁻³	NMP	10 ⁻⁴	NMP	10 ⁻⁵	NMP
MARMITA A	10ml	0	1,8	1	2	1	2	0	1,8	1	4	0	1,8
	1ml	0		0		0		0		0			
	0,1ml	1		0		0		1		1		1	
MARMITA B	10ml	1	4	1	4	1	6,1	0	1,8	1	4	1	4
	1ml	0		0		1		0		1			
	0,1ml	1		1		1		1		0		0	
MARMITA C	10ml	1	6,1	1	4	0	3,6	1	4	0	<1,8	0	1,8
	1ml	1		1		1		0		1			
	0,1ml	1		0		1		1		0		0	

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Tabla 11-3. Datos obtenidos del análisis microbiológico quesos frescos: aerobios mesófilos, Staphylococcus aureus, salmonella y E. coli

Cuantificación de UFC/g de los siguientes microorganismos																									
Muestra Queso Tienda	Aerobios mesófilos						<u>Staphylococcus aureus</u>						Salmonella						E. coli						
	Número de muestreo						Número de muestreo						Número de muestreo						Número de muestreo						
	1 ^{er} Muestreo			2 ^{do} Muestreo			1 ^{er} Muestreo			2 ^{do} Muestreo			1 ^{er} Muestreo			2 ^{do} Muestreo			1 ^{er} Muestreo			2 ^{do} Muestreo			
	Diluciones			Diluciones			Diluciones			Diluciones			Diluciones			Diluciones			Diluciones			Diluciones			
	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵		10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
Marmita "A" UFC;	13	8	1	24	20	5	1	1	1	5	4	2	P	P	P	P	P	P	10 ml	273	217	128	297	216	135
	8	6		6	8	9													1ml	201	110	16	227	128	72
																				0,1 ml	115	50	8	110	93
Marmita "B" UFC;	20	5	2	21	5	2	8	4	2	6	2	1	P	P	P	P	P	P	10 ml	269	222	134	234	216	125
	9	5	5	0	1	8													1ml	214	128	66	220	108	64
																				0,1 ml	124	106	33	101	99
Marmita "C" UFC;	10	7	3	62	2	3	7	2,3	1	6	3	3	P	P	P	P	P	P	10 ml	246	224	118	229	180	106
	3	8	1		9	0													1ml	214	103	65	230	98	43
																				0,1 ml	135	48	32	120	65

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Tabla 12-3. Datos confirmatorios obtenidos del análisis microbiológicos; API para Salmonella, en queso fresco de quesera, mercado y tienda

RESULTADOS API QUESO FRESCO SALMONELLA (25g)															
MUESTRA	MARMITA	DISOLUCIÓN	SIM				CITRATO	KLIGLER				MANITOL	UREA		
			MOVILIDAD	SH2	INDOL/ CRECIMIENTO	GAS	NEGATIVO	GLUCOSA	GAS	LACTOSA	SH2	CRECIMIENTO/ COLOR	POSITIVO	NEGATIVO	
MUESTREO 1	Queso quesera; MA	10-3	-	-	-	No Satisfactorio	+	-	+	+	+	-	+		-
	Queso mercado; MB	10-3	+	+	-	Satisfactorio	+	-	+	+	-	-	+	+	
	Queso tienda; MC	10-5	+	-	-	Satisfactorio	+	-	+	+	-	-	+	+	
MUESTREO 2	Queso quesera; MC	10-4	+	+	-	Satisfactorio	+	-	+	+	-	-	+		-
	Queso mercado; MB	10-3	+	-	+	Satisfactorio	+	-	+	+	+	-	-		-
	Queso tienda; MC	10-3	+	+	-	Satisfactorio	+	.	+	+	+	-	-		-

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Tabla 13-3. Datos confirmatorios obtenidos de los análisis microbiológicos; API para E. coli, en queso fresco de quesera, mercado y tienda

RESULTADOS API QUESO FRESCO E. coli (UFC/g)														
MUESTRA	MARMITA	DISOLUCIÓN	SIM				CITRATO		KLIGLER			MANITOL	UREA	
			MOVILIDAD	SH2	INDOL/CRECIMIENTO	CRECIMIENTO	COLOR	SUPERFICIE/PROFUNDIDAD	PRODUCCIÓN DE GAS	SH2	CRECIMIENTO/COLOR	POSITIVO	NEGATIVO	
QUESO QUESERA	B	10-3	+	-	-	Satisfactorio	Negativo	Verde	Amarillo/Amarillo. Glucosa/Lactosa	Positivo	Negativo	Positivo		
QUESO QUESERA	B	10-5	+	+	-	Satisfactorio	Negativo	Verde	Amarillo/Amarillo Glucosa/Lactosa	Negativo	Positivo	Positivo		-
QUESO QUESERA	C	10-3	+	-	+	Satisfactorio	Negativo	Verde	Amarillo/Amarillo Glucosa/Lactosa	Positivo	Negativo	Positivo		-
QUESO MERCADO	A	10-5	+	+	-	Satisfactorio	Negativo	Verde	Amarillo/Amarillo Glucosa/Lactosa	Descartado	Positivo	Negativo		-
QUESO MERCADO	B	10-3	+	-	+	Satisfactorio	Negativo	Verde	Amarillo/Amarillo Glucosa/Lactosa	Positivo	Negativo	Positivo		-
QUESO MERCADO	B	10-5	+	-	+	Satisfactorio	Negativo	Verde	Amarillo/Amarillo Glucosa/Lactosa	Positivo	Negativo	Positivo		-

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Tabla 14-3. S. aureus-Manitol, muestra 1

ANÁLISIS DE QUESO FRESCO												
Microorganismo	MUESTREO EN MANITOL											
	MUESTRA 1						DUPLICADO					
	MARMITA A 10 ⁻³		MARMITA B 10 ⁻³		MARMITA C 10 ⁻³		MARMITA A 10 ⁻³		MARMITA B 10 ⁻³		MARMITA C 10 ⁻³	
S. aureus	c. típicas		c. típicas		c. típicas		c. típicas		c. típicas		c. típicas	
	Calatasa	Coagulasa	Calatasa	Coagulasa	Calatasa	Coagulasa	Calatasa	Coagulasa	Calatasa	Coagulasa	Calatasa	Coagulasa
	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Tabla 15-3. S. aureus-Manitol, muestra 2

ANÁLISIS DE QUESO FRESCO												
Microorganismo	MUESTREO EN MANITOL											
	MUESTRA 2						DUPLICADO					
	MARMITA A 10 ⁻³		MARMITA B 10 ⁻³		MARMITA C 10 ⁻³		MARMITA A 10 ⁻³		MARMITA B 10 ⁻³		MARMITA C 10 ⁻³	
S. aureus	c. típicas		c. típicas		c. típicas		c. típicas		c. típicas		c. típicas	
	Calatasa	Coagulasa	Calatasa	Coagulasa	Calatasa	Coagulasa	Calatasa	Coagulasa	Calatasa	Coagulasa	Calatasa	Coagulasa
	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

3.1.5. Datos obtenidos del análisis físico químico en queso fresco

Tabla 16-3. Análisis físico químico en la muestra de quesos frescos de la quesera

ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS EN QUESO FRESCO									
QUESERA		NÚMERO DE MUESTREO							
		PRIMER MUESTREO				SEGUNDO MUESTREO			
		Temperatura	aw	pH	%Acidez	Temperatura	aw	pH	%Acidez
MARMITA	AP	40,30	0,976	5,871	5,35	47,00	0,976	5,871	5,35
MARMITA	BP	44,90	0,977	5,921	5,30	53,90	0,977	5,921	5,30
MARMITA	CP	53,30	0,982	5,959	5,30	43,75	0,982	5,959	5,30

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Tabla 17-3. Análisis físico químico en la muestra de quesos frescos del mercado

ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS EN QUESO FRESCO									
TIENDA		NÚMERO DE MUESTREO							
		PRIMER MUESTREO				SEGUNDO MUESTREO			
		Temperatura	aw	pH	%Acidez	Temperatura	aw	pH	%Acidez
MARMITA	AP	18,95	0,976	5,871	5,35	18,75	0,977	6,392	3,50
MARMITA	BP	21,50	0,977	5,922	5,30	17,60	0,982	6,389	3,55
MARMITA	CP	19,00	0,982	5,959	5,30	17,75	0,976	6,377	3,35

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Tabla 18-3. Análisis físicos-químico en la muestra de quesos frescos de la tienda

ANÁLISIS FÍSICOS-QUÍMICOS EN QUESO FRESCO									
MERCADO		NÚMERO DE MUESTREO							
		PRIMER MUESTREO				SEGUNDO MUESTREO			
		Temperatura	aw	pH	%Acidez	Temperatura	aw	pH	%Acidez
MARMITA	AP	41,30	0,9989	5,861	4,95	48,00	0,9569	5,581	5,58
MARMITA	BP	54,90	0,9541	5,921	5,10	51,90	0,9521	5,631	3,25
MARMITA	CP	50,30	0,9395	5,949	5,70	42,75	0,9235	5,589	5,98

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

3.1.6. *Datos obtenidos de la composición química de la leche cruda y tratada térmicamente en la quesera*

Tabla 19-3. Composición química en la muestra de leche cruda de la quesera

COMPOSICIÓN QUÍMICA EN LECHE CRUDA																	
QUESERA		NÚMERO DE MUESTREO															
		PRIMER MUESTREO								SEGUNDO MUESTREO							
		Densidad (mg/ml)	% de Lactosa	% Materia grasa	% Proteína	Conductividad (mS/cm)	pH	Temperatura °C	Viscosidad(cps)	Densidad (mg/ml)	% de Lactosa	% Materia grasa	% Proteína	Conductividad (mS/cm)	pH	Temperatura °C	Viscosidad (cps)
MARMITA	AP	1,0285	4,05	4,15	3,65	5,19	6,71	15,93	1,50	1,0345	4,205	4,15	3,8	5,24	6,78	15,98	1,55
MARMITA	BP	1,0305	4,21	4,70	3,30	4,64	6,64	17,04	1,50	1,0280	4,265	4,30	3,7	4,62	6,63	17,09	1,61
MARMITA	CP	1,0325	4,14	4,15	3,50	4,31	6,71	16,40	1,44	1,0280	4,180	4,35	3,5	4,30	6,77	16,44	1,35

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Tabla 20-3. Composición química en la muestra de leche tratada térmicamente de la quesera

COMPOSICIÓN QUÍMICA EN LECHE TRATADA TERMICAMENTE																	
QUESERA		NÚMERO DE MUESTREO															
		PRIMER MUESTREO								SEGUNDO MUESTREO							
		Densidad (mg/ml)	% de Lactosa	% Materia grasa	% Proteína	Conductividad (mS/cm)	pH	Temperatura °C	Viscosidad (cps)	Densidad (mg/ml)	% de Lactosa	% Materia grasa	% Proteína	Conductividad (mS/cm)	pH	Temperatura °C	Viscosidad (cps)
MARMITA	A P	1,0355	4,03	4,35	3,34	5,21	6,43	15,83	1,52	1,0565	4,12 3	4,12	4,4	5,42	6,54	12,87	1,43
MARMITA	B P	1,0205	4,31	4,61	3,21	4,42	6,42	16,12	1,45	1,0230	4,34 5	4,67	3,6	4,32	5,32	14,89	1,98
MARMITA	C P	1,0225	4,04	4,23	3,34	4,13	6,72	15,42	1,36	1,0670	4,56 7	4,89	5,8	4,67	6,87	17,78	1,76

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

3.2. Resultados y discusión

3.2.1. Flujograma de proceso

Mediante el flujograma de procesos se determinan los diferentes puntos críticos, mismos que contribuyeron con el análisis microbiológico, brindando, aportación a nuestra investigación, haciendo referencias a los posibles focos de contaminación, tomando en cuenta el tiempo, desde su elaboración, transporte y comercialización.

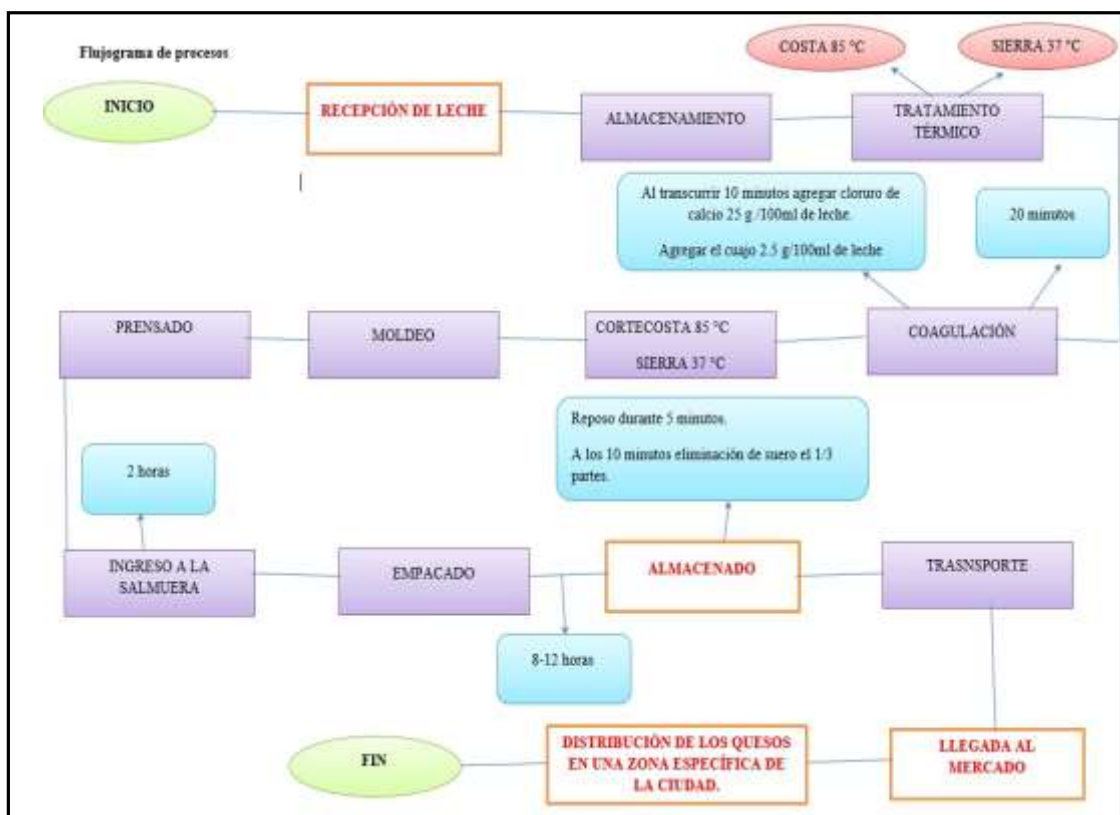


Gráfico 1-3. Flujograma de procesos

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

3.2.2. Resultados del análisis microbiológico de la leche cruda en la quesera

Tabla 21-3. Análisis microbiológico de la leche cruda dentro de la planta

Lugar de muestreo		<u><i>S. aureus</i></u> Log10 UFC/g		<u><i>Enterobacterias</i></u> Log10 UFC/g		<u>Coliformes totales</u> Log10 UFC/g		<u><i>E.coli</i></u> Log10 UFC/g	
		Resultado y DE	M	Resultado y D.E.	M	Resultado y D.E.	M	Resultado y D.E.	M
Quesera	Leche Cruda	5.41±1.03	**10	2.05±0.24	*10 ⁶	4.81±0.45	10 ³	6.72±1.24	10

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

3.2.3. Resultados del análisis microbiológico de quesos frescos desde la quesera, mercado y las tiendas

Tabla 22-3. Análisis microbiológico de quesos frescos desde la quesera, mercado y las tiendas

Lugar de muestreo	Tiempo (Horas)	T °C y DE	<u><i>S. aureus</i></u> Log10 UFC/g		<u><i>Enterobacterias</i></u> Log10 UFC/g		<u>Coliformes totales</u> Log10 UFC/g		<u><i>E.coli</i></u> Log10 UFC/g	<u><i>Salmonella</i></u> Log10 UFC/g
			Resultado y DE	M	Resultado y D.E.	M	Resultado y D.E.	M	Resultado y D.E.	M

Quese ra	8	21.78 ±1.63	3.48 ±0.6 1	* 10²	2.05± 0.54	* 10³	4.71± 0.87	** 10³	3.75± 0.36	* 10⁰	Ause ncia
Merca do	24	12.85 ±1.40	3.50 ±0.6 5		2.71± 0.87		5.48± 0.87		2.96± 0.42		Prese ncia
Tiend as	72	18.15 ±1.14	3.55 ±0.9 2		2.82± 0.96		5.60± 0.87		3.77± 0.13		Prese ncia

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Fuente:
Datos
obtenidos
en el
estudio

3.2.4. Resultados del análisis de la composición química en la leche cruda y tratada térmicamente en la quesera

Tabla 23-3. Análisis de la composición química de la leche cruda y tratada térmicamente dentro de la planta

Lugar de muestreo	Muestra	Tiempo (Horas)	Densidad (mg/ml)	% Lactosa *4.90	% Materia grasa *3.0	% Proteína ***≥ 3	Conductividad (mS/cm) *****5.49	pH *6.6-6.7	Temperatura °C *20	Viscosidad (cps) *1.7-2.2
Quesera	Leche Cruda	8	1.038±0.13	4.30±0.61	2.56±0.21	4.72±0.16	4.71±0.46	6.48±0.06	15.0±0.55	2,18±0.09
	Muestra		**1.026-1-042	*****2.4-6.1	**2.8	**2.7	*****4.49	**5-6.8	**40	**0.87-1.4
	Leche tratada	8	1.014±0.01	4.24±0.04	4.48±0.14	2.4±0.73	3.70±0	6.38±0.46	36.49±1.50	3.02±0.14

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

3.2.5. Resultados del análisis físico-químico en el queso fresco desde la quesera, mercado y tienda

Tabla 24-3. Análisis físicos químicos de queso fresco desde la quesera, mercado y las tiendas

Lugar de muestreo	Tiempo (Horas)	T °C y DE	aw	pH	%Acidez
			*0.2-0.99	*4.7-5.5	*5.5
Quesera	8	21.78 ±1.63	0.9881 ±0.01	5.15 ±0.03	5.39 ±0.05
Mercado	24	12.85 ±1.40	0.9782 ±0.44	5.92 ±0.25	4.32 ±0.57
Tiendas	72	18.15 ±1.14	0.9542 ±0.78	5.76 ±0.01	5.53 ±0.76

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

3.2.6. Análisis de correspondencias

Como los datos recogidos son esencialmente cualitativos, es preponderante el tratamiento estadístico a través del análisis de correspondencias entre los parámetros medidos según los objetivos del estudio presentado en este documento.

Tabla 25-3. Prueba de normalidad, número de bacterias

Tests of Normality

PRODUCTO	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
NUMERO_BACTERIAS Leche cruda	,202	156	,000	,841	156	,000
Queso	,274	159	,000	,749	159	,000

a. Lilliefors Significance Correction

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Planteamiento de hipótesis

Ho. La distribución es normal $p \geq 0,05$

Hi. La distribución no es normal $p < 0,05$

Decisión

Como $p < 0,05$ se desecha la hipótesis nula

Como la prueba de normalidad es robusta, se realizará un test más, esto es: Levene, de homocedasticidad para determinar igualdad de varianzas la que, de confirmarse, como la distribución es balanceada, determina la normalidad de esta.

Tabla 26-3. Prueba de Levene

		Independent Samples Test								
Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means								
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
NUMERO_BACTERIAS	Equal variances assumed	1,668	,197	,490	313	,625	5,727	11,696	-17,285	28,739
	Equal variances not assumed			,490	312,993	,624	5,727	11,678	-17,251	28,704

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Planteamiento de hipótesis

Ho. Se asumen varianzas iguales $p \geq 0,05$

Hi. No se asumen varianzas iguales $p < 0,05$

Decisión

Como $p > 0,05$, no existen argumentos para desechar la hipótesis nula.

La distribución referida el número de bacterias es normal.

Tabla 27-3. Dimensiones producto-bacteria

Dimensión	Singular Value	Inertia	Chi Square	Sig.	Proportion of Inertia		Confidence Singular Value
					Accounted for	Cumulative	Standard Deviation
					1	,407	,165
Total		,165	4663,246	,000*	1,000	1,000	

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Planteamiento de hipótesis

Ho. No es conveniente el análisis de correspondencias $p \geq 0,05$

Hi. Conviene el análisis de correspondencias $p < 0,05$

Decisión

Como $p < 0,05$, se desecha la hipótesis nula.

Tabla 28-3. Análisis de filas producto-bacteria

Overview Row Points^a

BACTERIA	Mass	Score in Dimension	Inertia	Contribution		
		1		Of Point to Inertia of Dimension	Of Dimension to Inertia of Point	
				1	1	Total
Entero PCA	,200	,964	,075	,456	1,000	1,000
S. Aureus-Maritol	,007	,888	,002	,014	1,000	1,000
Salmonella-Agar	,345	-,769	,083	,502	1,000	1,000
Coliformes totales	,001	1,389	,001	,005	1,000	1,000
E Coli-Eosina	,447	,145	,004	,023	1,000	1,000
Active Total	1,000		,165	1,000		

a. Symmetrical normalization

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

La ponderación del punto de inercia a la dimensión muestra que las contribuciones elegidas, mayores al promedio son la Enterobacteria PCA cuya puntuación corresponde a 0,964 y Salmonella-Agar con -0,769.

Tabla 29-3. Análisis de columnas producto-bacteria

Overview Column Points^a

PRODUCTO	Mass	Score in Dimension	Inertia	Contribution		
		1		Of Point to Inertia of Dimension	Of Dimension to Inertia of Point	
				1	1	Total
Leche cruda	,623	-,496	,062	,377	1,000	1,000
Queso	,377	,819	,103	,623	1,000	1,000
Active Total	1,000		,165	1,000		

a. Symmetrical normalization

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Las columnas muestran una mayor contribución del queso, con un puntaje de 0,819 sobre la leche cruda que, a pesar de que no llega al 0,5 del promedio, requerido, contribuye a la inercia del punto con un score de -0,496.

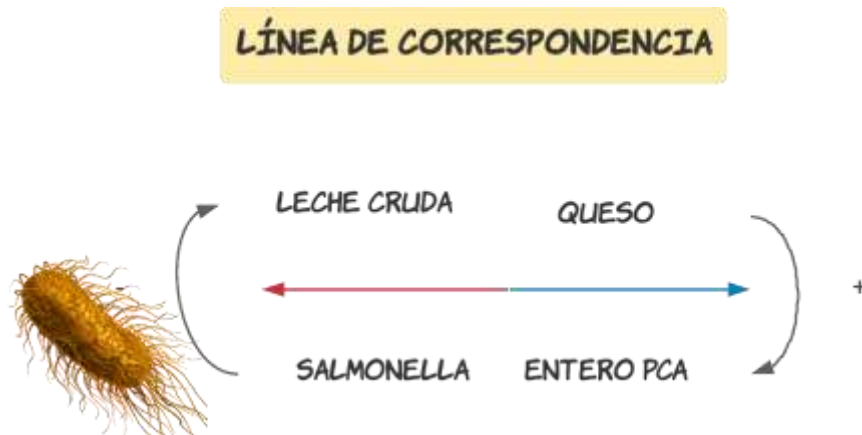


Figura 1-3. Correspondencia producto-bacteria

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

La línea de correspondencia vincula la Salmonella con la leche cruda mientras en el queso es más preponderante el Entero PCA.

Tabla 30-3. Disolución bacterias

Dimension	Singular Value	Inertia	Chi Square	Sig.	Proportion of Inertia		Confidence Singular Value	
					Accounted for	Cumulative	Standard Deviation	Correlation
1	,187	,035			,999	,999	,005	,048
2	,006	,000			,001	1,000	,006	
Total		,035	990,787	,000 ^a	1,000	1,000		

a. 8 degrees of freedom

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Planteamiento de hipótesis

Ho. No es conveniente el análisis de correspondencias $p \geq 0,05$

Hi. Conviene el análisis de correspondencias $p < 0,05$

Decisión

Como $p < 0,05$, se desecha la hipótesis nula.

Tabla 31-3. Análisis de filas disolución -bacterias

Overview Row Points^a

BACTERIA	Mass	Score in Dimension		Inertia	Contribution				
		1	2		Of Point to Inertia of Dimension		Of Dimension to Inertia of Point		Total
					1	2	1	2	
Entero PCA	,200	-,821	,011	,025	,720	,004	1,000	,000	1,000
S. Aureus-	,007	-,749	,224	,001	,021	,055	,997	,003	1,000
Maritol									
Salmonella-Agar	,345	,354	,024	,008	,230	,030	1,000	,000	1,000
Coliformes									
totales	,001	,693	2,220	,000	,003	,840	,739	,261	1,000
E Coli-Eosina	,447	,104	-,032	,001	,026	,072	,997	,003	1,000
Active Total	1,000			,035	1,000	1,000			

a. Symmetrical normalization

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

La ponderación del punto de inercia a la dimensión muestra que las contribuciones elegidas, mayores al promedio son la Enterobacteria PCA cuya puntuación corresponde a -0,821 y Salmonella-Agar con 0,354.

Tabla 32-3. Análisis de columnas disolución -bacterias

Overview Column Points^a

Disolución	Mass	Score in Dimension		Inertia	Contribution				
		1	2		Of Point to Inertia of Dimension		Of Dimension to Inertia of Point		Total
					1	2	1	2	
10-3	,486	-,404	,035	,015	,423	,091	1,000	,000	1,000
10-4	,327	,189	-,110	,002	,062	,610	,989	,011	1,000
10-5	,187	,717	,101	,018	,514	,298	,999	,001	1,000
Active Total	1,000			,035	1,000	1,000			

a. Symmetrical normalization

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Las columnas muestran una mayor contribución de la disolución 10^5 , con un puntaje de 0,717 sobre la de la 10^3 cuyo score de -0,404.



Figura 2-3. Correspondencia disolución-bacteria

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

La línea de correspondencia vincula la Salmonella con la disolución 10^5 mientras en que el Enterobacteria PCA, en el lado negativo, con la 10^3 .

Tabla 33-3. Tiempo de incubación-bacterias

Summary

Dimension	Singular Value	Inertia	Chi Square	Sig.	Proportion of Inertia		Confidence	Singular
					Accounted for	Cumulative	Value	Standard Deviation
1	1,000	1,000			1,000	1,000	,000	
Total		1,000	28201,000	,000 ^a	1,000	1,000		

a. 4 degrees of freedom

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Planteamiento de hipótesis

Ho. No es conveniente el análisis de correspondencias $p \geq 0,05$

Hi. Conviene el análisis de correspondencias $p < 0,05$

Decisión

Como $p < 0,05$, se desecha la hipótesis nula.

Tabla 34-3. Análisis de filas Tiempo de incubación-bacterias

Overview Row Points^a

BACTERIA	Mass	Score	in Inertia	Contribution		
		Dimension		Of Point to Inertia of		Of Dimension to Inertia of
		1		Dimension	Point	Point
Enterobacteria PCA	,200	-1,958	,766	,766	1,000	1,000
S. Aureus	,007	-1,958	,027	,027	1,000	1,000
Maritol						
Salmonella-Agar	,345	,511	,090	,090	1,000	1,000
Coliformes						
totales	,001	,511	,000	,000	1,000	1,000
E Coli-Eosina	,447	,511	,117	,117	1,000	1,000
Active Total	1,000		1,000	1,000		

a. Symmetrical normalization

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

La ponderación del punto de inercia a la dimensión muestra que la contribución elegida mayor al promedio es la Enterobacteria PCA cuya puntuación corresponde a -1,958.

Tabla 35-3. Análisis de columnas tiempo de incubación-bacterias

Overview Column Points^a

TIEMPO_INCUBACION	Mass	Score	in Inertia	Contribution		
		Dimension		Of Point to Inertia of		Of Dimension to Inertia of
		1		Dimension	Point	Point
24H	,207	-1,958	,793	,793	1,000	1,000
48H	,793	,511	,207	,207	1,000	1,000
Active Total	1,000		1,000	1,000		

a. Symmetrical normalization

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Las columnas muestran una mayor contribución del tiempo de incubación de 24H con un puntaje de -1,958.

LÍNEA DE CORRESPONDENCIA

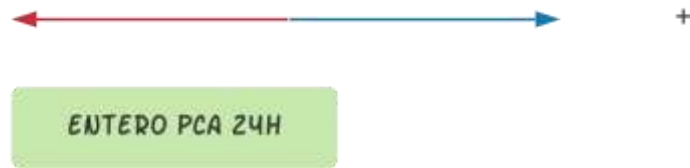


Figura 3-3. Correspondencia Tiempo de incubación-bacterias

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

La línea de correspondencia vincula la Enterobacteria PCA, en el lado negativo, con el tiempo de incubación de 24 horas.

3.2.7. Resultados de las pruebas físico-químicas

Tabla 36-3. Prueba de Levene físico-químicas

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

	F	df1	df2	Sig.
TEMPERATURA_INCUBACIÓN	.	1	1168	.
awFQ	178,435	1	1168	,000
pHFQ	7112,215	1	1168	,000
AcidezFQ	22256,136	1	1168	,000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: + TratamientoFQ

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Planteamiento de hipótesis

Ho. No existe diferencia en las varianzas $p \geq 0,05$

Hi. Existe diferencia de varianzas $p < 0,05$

Decisión

Como $p < 0,05$, se desecha la hipótesis nula.

Tabla 37-3. Test Inter sujetos

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	TEMPERATURA_INCUBACION	,000 ^a	1	,000		
	awFQ	,000 ^b	1	,000	25,253	,000
	pHFQ	15,440 ^c	1	15,440	589,206	,000
	AcidezFQ	231,840 ^d	1	231,840	515,332	,000
TratamientoFQ	TEMPERATURA_INCUBACION	,000	1	,000		
	awFQ	,000	1	,000	25,253	,000
	pHFQ	15,440	1	15,440	589,206	,000
	AcidezFQ	231,840	1	231,840	515,332	,000
Total	pHFQ	30,607	1168	,026		
	AcidezFQ	525,464	1168	,450		
	TEMPERATURA_INCUBACION	1601730,000	1170			
	awFQ	1115,475	1170			
Corrected Total	pHFQ	42551,368	1170			
	AcidezFQ	30062,330	1170			
	TEMPERATURA_INCUBACION	,000	1169			
	awFQ	,010	1169			
	pHFQ	46,046	1169			
	AcidezFQ	757,304	1169			

a. R Squared = . (Adjusted R Squared = .)

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

Planteamiento de hipótesis

Ho. No existen diferencias entre el tratamiento y las variables respuesta $p \geq 0,05$

Hi. Existen diferencias entre el tratamiento y las variables respuesta $p < 0,05$

Decisión

Como $p < 0,05$, se desecha la hipótesis nula. Existen diferencias en las variables respuesta de las pruebas físico químicas según el tratamiento en la leche.

Tabla 38-3. Alfa de Cronbach, pesos de las dimensiones

Resumen del modelo				
Dimensión	Alfa de Cronbach	Varianza explicada		
		Total (Autovalores)	Inercia	% de la varianza
1	,677	2,295	,383	38,255
2	,373	1,450	,242	24,174
Total		3,746	,624	
Media	,559 ^a	1,873	,312	31,215

a. El Alfa de Cronbach Promedio está basado en los autovalores promedio.

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

La dimensión 1 explica un importante 38% de las variables, en tanto la número 2 lo hace con un 24%.

Tabla 39-3. Medidas de discriminación en las dimensiones

Medidas de discriminación			
	Dimensión		Media
	1	2	
PRODUCTO	,020	,036	,028
NUMERO BACTERIAS	,410	,591	,501
MUESTRA	,005	,019	,012
BACTERIA	,927	,734	,830
TIEMPO_INCUBACION	,923	,001	,462
DILUCIÓN	,009	,070	,040
Total activo	2,295	1,450	1,873
% de la varianza	38,255	24,174	31,215

Fuente: Datos obtenidos en el estudio

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

En cuanto a las medidas de discriminación, el número de bacterias, su tipo y el tiempo de incubación tienen un peso mínimo necesario para explicar el modelo en la primera dimensión, mientras en la segunda son apenas el número de bacterias y su tipo quienes lo hacen. Nótese que, en ambos casos, el lugar de la toma de muestra no es importante para la caracterización con respecto al producto.

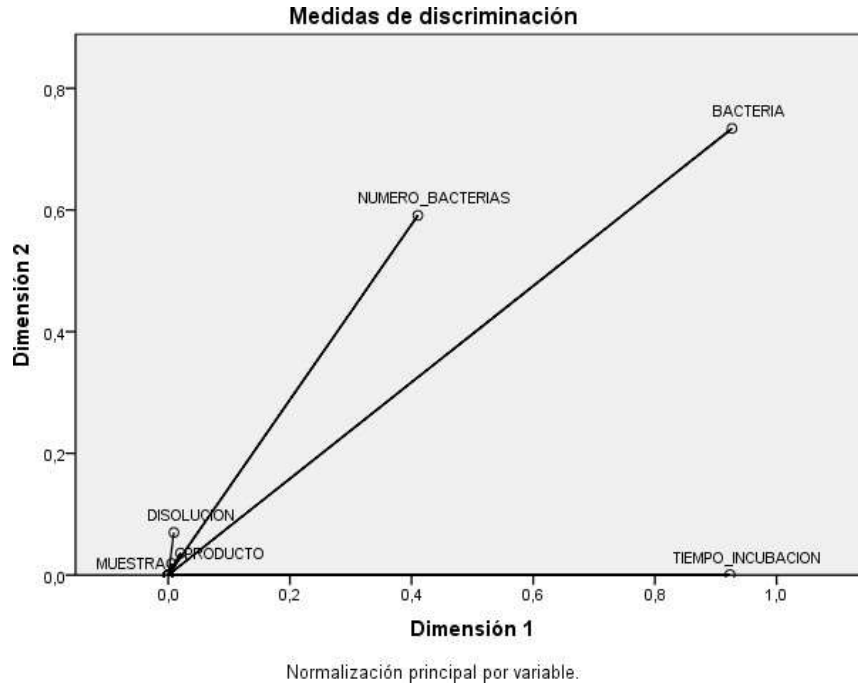


Gráfico 2-3. Medidas de discriminación en las dimensiones

Realizado por: Rivadeneira, C; Guaranga, F. 2021.

El gráfico anterior muestra los parámetros que explican el modelo siendo la dimensión 1 la más importante con el tipo, número de bacterias y tiempo de incubación. La dimensión 2 explica el modelo a través solo de las bacterias y su número.

3.2.8. *Discusión*

Los microorganismos encontrados en los análisis del queso y la leche fueron Enterobacterias, Salmonella y Escherichia coli, a diferencia de los determinado por Merchán en “Microorganismos comúnmente reportados como causantes de enfermedades transmitidas por el queso fresco en las Américas” donde se reportan: Staphylococcus aureus, Escherichia coli y Listeria monocytogenes, ver (Merchan et al, 2018, p.19).

Mientras que, en el estudio, la leche cruda mostró estar relacionada con la presencia de Salmonella en proporciones alarmantes, el queso más bien tuvo una correspondencia negativa con Enterobacteria PCA, esto a diferencia del análisis comparativo de nivel relacional de Arguello et al en el cual los investigadores determinan haber encontrado contaminación microbacteriana por sobre los estándares nacionales, (Arguello et al., 2015, p.26).

CONCLUSIONES

Se evaluó la calidad microbiológica del queso fresco artesanal a través de la cadena de comercialización, tomando en cuenta cada uno de los posibles focos de contaminación a los cuales estaría expuesto el queso artesanal después de su elaboración, de tal manera que se pueda aportar de manera positiva a mejorar la calidad microbiológica del producto final, destinado al consumidor.

Mediante el flujograma de procesos se determinó los puntos críticos de muestreo desde la recepción de la leche hasta su comercialización, mismos que permitieron aportar a este trabajo de investigación la información necesaria para llegar a los puntos con mayor incidencia de contaminación, pudiendo ser; los materiales a utilizar, los operarios, la manipulación, el transporte, el envasado, el protocolo de limpieza e incluso el inadecuado tratamiento térmico, así como también, el lugar de almacenamiento con temperaturas bajo lo normal, mismas que afecten el crecimiento microbiano.

Mediante el análisis de la composición química de la leche cruda y tratada térmicamente se obtuvo que la leche cruda presenta una densidad promedio de 1,038mg/ml, lactosa 4,30% , grasa 2,56 y proteína 4,72%, mientras que la leche tratada térmicamente presenta un valor promedio de 1,014mg/ml en densidad, 4,24% de lactosa, 4,48% de grasa y 2,4% de proteínas, siendo estos resultados satisfactorios para la calidad fisicoquímicas de la muestras analizadas, mismos que indican una aceptabilidad según la norma NTE-INEN 009:2012.

Se evaluó los niveles de microorganismos indicadores de la calidad microbiológica en los puntos críticos previamente identificados, considerando los máximos permitidos de la norma NTE-INEN 1528, para los microorganismos, E.coli, Salmonella, S. aureus y Aerobios mesófilos, determinando que no cumplen los requisitos establecidos en cuanto al crecimiento dentro de la norma ya mencionada, además cabe indicar que este crecimiento se encuentra relacionado directamente, con el tiempo, la temperatura y el almacenamiento, siendo en este caso de estudio el queso artesanal como producto final no apto para consumo humano.

RECOMENDACIONES

Se recomienda que la institución permita seguir con este tipo de análisis microbiológico de investigación, para que, de esta manera, se pueda obtener materia prima y producto de calidad para beneficio de la población.

Es recomendable mejorar las condiciones de transportación del producto, para evitar posibles contaminaciones que afecten significativamente a la calidad del producto.

Una recomendación importante es mantener mayor seguridad con respecto al empaquetado, etiquetado y sellado del producto, para que, de esta manera, se garantice la llegada en óptimas condiciones al consumidor final.

BIBLIOGRAFÍA

AFZAL, MUHAMMAD INAM, CITLALLI CELESTE GONZÁLEZ ARICEAGA, KENZA-AMEL BOULAHYA, MURIEL JACQUOT, et. al. , *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Biosynthesis and role of 3-methylbutanal in cheese by lactic acid bacteria: Major metabolic pathways, enzymes involved, and strategies for control. [online]. 57(2). ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2014.893502

ARGUELLO et al., *Perspectivas*. Microbiological quality of hand made cheeses produced in rural areas of Riobamba (Ecuador). 16(18), 65–74. 2015.

ARNABOLDI, SARA, ROBERTO BENEVENIA, BARBARA et. al. *Food Control* Validation of a real-time PCR method on pta gene for *Clostridium tyrobutyricum* quantification in milk. [online]. 130. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2021.108250

ATASHI, HADI A MIEL HOSTENS, *Plos one* Genetic parameters for milk urea and its relationship with milk yield and compositions in Holstein dairy cows. [online]. 16(6). ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0253191

BLĄŻEJEWSKI, TOMASZ, STUART RJ WALKER, RUKAYYA IBRAHIM et. al. *Sustainable Production and Consumption* Reimagining the milk supply chain: Reusable vessels for bulk delivery. [online]. 27, 1030–1046. ISSN 23525509. Dostupné z: doi:10.1016/j.spc.2021.02.030

BONDAN, CARLOS, JÉSSICA ANERIS FOLCHINI, MIRELA NORO, et. al. *Ciência Rural*. Milk composition of Holstein cows: a retrospective study. [online]. 48(12). ISSN 1678-4596. Dostupné z: doi:10.1590/0103-8478cr20180123

BÓRAWSKI, PIOTR, ADAM PAWLEWICZ, ANDRZEJ PARZONKO, JAYSON, et.al. *Sustainability*. Factors Shaping Cow’s Milk Production in the EU. [online]. 12(1). ISSN 2071-1050. Dostupné z: doi:10.3390/su12010420

CANADIAN RESEARCH INSTITUTE FOR FOOD SAFETY (CRIFS), *Food Science*. Types of microorganisms and their activity in milk. 2021.

COSSÍO, N. S, M. B. C. URIBE, M. L QUINTANA, SÁNCHEZ, et. al. *Proceedings of the*

International Conference on Industrial Engineering and Operations Management Bandung, Indonesia. Milk agro-alimentary chain sustainable development strategy in the conditions of the Ecuadorian Amazon region. 943–951.

DELGADO SILVA, HEYSELL DODANIG A LEANDRO ALBERTO PÁRAMO AGUILERA, *Revista Ciencia y Tecnología El Higo* Identificación molecular de microorganismos aislados de quesera artesanal ubicada en la Libertad-Chontales, Nicaragua. [online]. **10**(2). ISSN 2413-1911. Dostupné z: doi:10.5377/elhigo.v10i2.10554

EFIMOKHINA N.R., STETSENKO V.V., MARKOVA YU.M., PICHUGINA T.V. BYKOVA I.B., POLYANINA A.S., MINAEVA L.P. A SHEVELEVA S.A., *Problems of nutrition.* The study of the raw milk contamination by bacteria of the genus *Campylobacter* using traditional microbiological methods and quantitative PCR assay. 88(5), 17–23. 2019

GONZALEZ, RAUL S, SAFIA N SALARIA, CAITLIN D BOHANNON, AARON R HUBER, MICHAEL M FEELY A CHANJUAN SHI, *Histopathology* PD-1 inhibitor gastroenterocolitis: case series and appraisal of ‘immunomodulatory gastroenterocolitis’. [online]. **70**(4). ISSN 03090167. Dostupné z: doi:10.1111/his.13118

GRAM, L. A J. MELCHIORSEN, *Journal of Applied Bacteriology.* Interaction between fish spoilage bacteria *Pseudomonas* sp. and *Shewanella putrefaciens* in fish extracts and on fish tissue. [online]. 80(6). ISSN 00218847. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2672.1996.tb03262.x

GUEVARA-FREIRE, DEYSI, MAYRA MONTERO-RECALDE, LUCIANO et. al. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú.* Calidad de leche acopiada de pequeñas ganaderías de Cotopaxi, Ecuador. [online]. 30(1). ISSN 1682-3419. Dostupné z: doi:10.15381/rivep.v30i1.15679

GUPTA, RIDHIMA A AMLAN DASGUPTA, *Climatic Change.* Milk will drive methane emissions in India. [online]. **161**(4). ISSN 0165-0009. Dostupné z: doi:10.1007/s10584-020-02715-4

HANRAHAN, L., N. MCHUGH, T. HENNESSY, et. al. *Journal of Dairy Science.* Factors associated with profitability in pasture-based systems of milk production. [online]. **101**(6), 5474–5485. ISSN 15253198. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2017-13223

KILCAWLEY, KIERAN, HOPE FAULKNER, HOLLY CLARKE, et. al. *Foods.* Factors

Influencing the Flavour of Bovine Milk and Cheese from Grass Based versus Non-Grass Based Milk Production Systems. [online]. 7(3). ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods7030037

KRIZSAN, SOPHIE J., JUANA C. CHAGAS, DEGONG PANG A EDWARD H. CABEZAS- GARCIA, *Grass and Forage Science*. Sustainability aspects of milk production in Sweden. [online]. 76(2). ISSN 0142-5242. Dostupné z: doi:10.1111/gfs.12539

LEITE JÚNIOR, BRUNO RICARDO DE CASTRO, et al., *Effect of high isostatic pressure processing on milk-clotting enzymes*. B.m. b.n. 2017.

MADERA, CARMEN, CRISTINA MONJARDÍN A JUAN E. SUÁREZ, *Applied and Environmental Microbiology*. Milk Contamination and Resistance to Processing Conditions Determine the Fate of *Lactococcus lactis* Bacteriophages in Dairies. [online]. 70(12). ISSN 0099-2240. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.70.12.7365-7371.2004

MERCHAN et al, *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. Microorganismos comúnmente reportados como causantes de enfermedades transmitidas por el queso fresco en las Américas, 2007-2016. 56. 2018.

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA DEL ECUADOR, Ecuador se nutre de leche. *MAG*. 2018.

MONKS, JENIFER, MARK S. LADINSKY A JAMES L. MCMANAMAN, *Contact*. Organellar Contacts of Milk Lipid Droplets. [online]. 3. ISSN 2515-2564. Dostupné z: doi:10.1177/2515256419897226

MSALYA, G., *Veterinary Medicine International*. Contamination Levels and Identification of Bacteria in Milk Sampled from Three Regions of Tanzania: Evidence from Literature and Laboratory Analyses. [online]. 2017. ISSN 2090-8113. Dostupné z: doi:10.1155/2017/9096149

PASOLLI, EDOARDO, FRANCESCA DE FILIPPIS, ITALIA E. MAURIELLO, FABIO CUMBO, et. al. *Nature Communications* Large-scale genome-wide analysis links lactic acid bacteria from food with the gut microbiome. [online]. 11(1). ISSN 2041-1723. Dostupné z: doi:10.1038/s41467-020-16438-8

PEÑA, CARLOS, PEÑA, C. (2021). Comentario sobre tuberculosis ganglionar. *Revista chilena*

de enfermedades respiratorias. 37(1), 85–85.

RIBEIRO JÚNIOR, J.C., A.M. DE OLIVEIRA, F. DE G. SILVA, R. TAMANINI, A.L.M. DE OLIVEIRA A V. BELOTI, The main spoilage-related psychrotrophic bacteria in refrigerated raw milk. *Journal of Dairy Science* [online]. **101**(1). ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2017-13069. 2018.

SAMILLÁN, SERGIO, *Biodegradación de aceites residuales por lipasas termoestables de bacterias termófilas*. B.m. b.n. 2017.

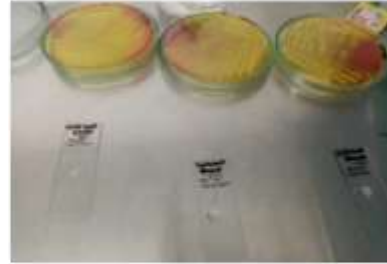
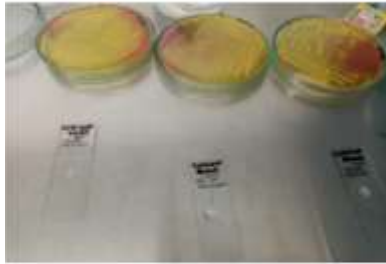
SIMALUIZA, ROSA, ZORAYDA TOLEDO A HERIBERTO FERNÁNDEZ, *Revista chilena de infectología*. Prevalencia y caracterización del perfil de susceptibilidad antimicrobiana de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* en niños con diarrea de la ciudad de Loja, Ecuador. [online]. 35(2). ISSN 0716-1018. Dostupné z: doi:10.4067/s0716-10182018000200213

USGAME, TORRES & ZAMBRANO, *Infometric@*. Parámetros tecnológicos que afectan la microestructura y actividad lipolítica de quesos. Proyección hacia quesos protegidos bajo denominación de origen: Queso Paipa. 1(2). 2018.

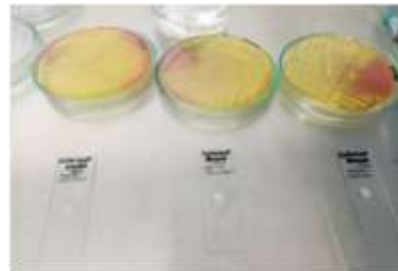
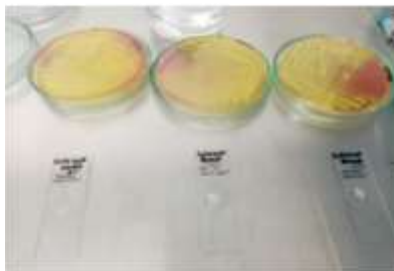
ANEXO

ANEXO A: RECUENTO MICROBIANO DE S. AUREUS

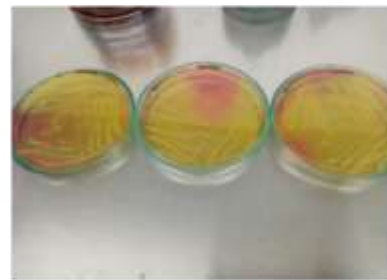
RECUENTO MICROBIANO DE S. AUREUS



CRECIMIENTO DES AUREUSEN MUESTRAS TOMADAS DE LA QUESERA



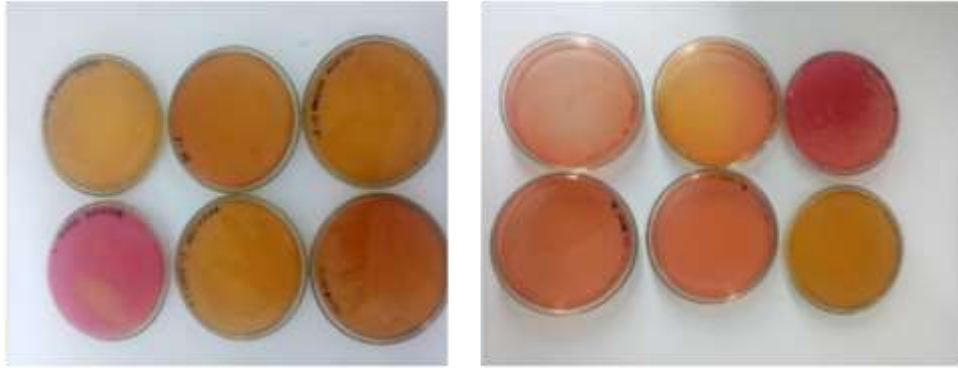
CRECIMIENTO DES AUREUSEN MUESTRAS TOMADAS DEL MERCADO



CRECIMIENTO DES AUREUSEN MUESTRAS TOMADAS DE LA TIENDA

ANEXO B: RECUENTO MICROBIANO DE SALMONELLA

RECUENTO MICROBIANO DE SALMONELLA



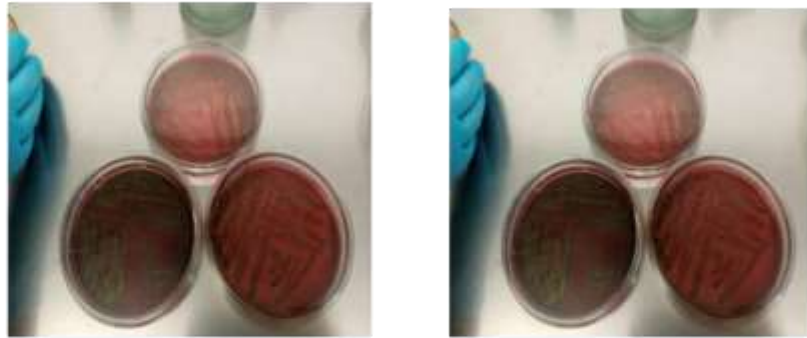
CRECIMIENTO DE SALMONELLA EN MUESTRAS TOMADAS DE LA QUESERA



CRECIMIENTO DE S. AUREUS EN MUESTRAS TOMADAS DEL MERCADO

ANEXO C: RECUENTO MICROBIANO DE E. COLI

RECUENTO MICROBIANO DE E. COLI



CRECIMIENTO DE E. COLI EN MUESTRAS TOMADAS DE LA QUESERA



CRECIMIENTO DE E. COLI EN MUESTRAS TOMADAS DEL MERCADO



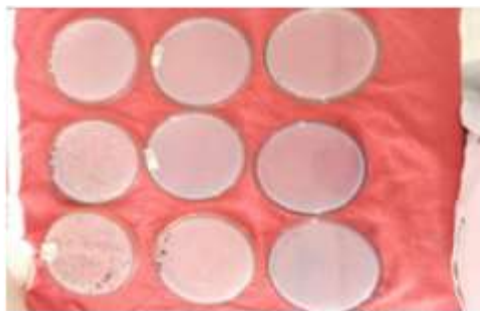
CRECIMIENTO DE E. COLI EN MUESTRAS TOMADAS DE LA TIENDA

ANEXO D: RECUENTO MICROBIANO DE ENTEROBACTERIAS

RECUENTO MICROBIANO DE ENTEROBACTERIAS



CRECIMIENTO DE ENTEROBACTERIAS EN MUESTRAS TOMADAS DE LA QUESERA



CRECIMIENTO DE ENTEROBACTERIAS EN MUESTRAS TOMADAS DEL MERCADO



CRECIMIENTO DE ENTEROBACTERIAS EN MUESTRAS TOMADAS DE LA TIENDA

ANEXO E: RECUENTO MICROBIANO DE ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICOS

ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS



Análisis de a_w



Análisis de pH



Análisis de acidez



Análisis de
Temperatura

ANEXO F: ANÁLISIS DE COMPOSICIÓN QUÍMICA

ANÁLISIS DE COMPOSICIÓN QUÍMICA



EKOMILK



ELABORACIÓN DEL QUESO Y LECHE DENTRO DE LA QUESERA

ANEXO G: RECEPCIÓN DEL QUESO EN EL MERCADO

RECEPCIÓN DEL QUESO EN EL MERCADO



CONDICIONES DEL QUESO A NIVEL DE LAS TIENDAS



epoch

Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje

**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL**

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 14 / 04 / 2022

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: <i>Fátima Lourdes Guaranga Duchí</i> <i>Carla Janina Rivadeneira Samaniego</i>
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: <i>Ciencias</i>
Carrera: <i>Bioquímica y Farmacia</i>
Título a optar: <i>Bioquímica Farmacéutica</i>
f. Analista de Biblioteca responsable: <i>Ing. Leonardo Medina Ñuste MSc.</i>

LEONARDO
FABIO MEDINA
NUSTE

Firmado digitalmente por LEONARDO
FABIO MEDINA NUSTE
Nombre de posesión: LEONARDO NUSTE, cnic: 0482,
ORGANISMO CENTRAL DEL ECUADOR,
QUINTONILLO DE CERTIFICACIÓN DE
INFORMACIÓN-ECI/ICE, IQUILITO,
serie: Numero=0000021485,
cnic: LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Fecha: 2022.04.14 08:38:33 -0500



0684-DBRA-UTP-2022