



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

**“INFLUENCIA DE TEMPERATURA Y SALINIDAD EN EL
CRECIMIENTO DE *Listeria* y *Salmonella* EN QUESOS FRESCOS”**

Trabajo de Titulación

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para obtener al grado académico de:

INGENIERA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

AUTOR: FRANCHESKA ZELENIA RIERA ESTRADA

TUTOR: Ing. MSc. Jesús Ramón López Salazar.

Riobamba – Ecuador

2020

©2019.FrancheskaZelena Riera Estrada

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

Yo, FRANCHESKA ZELENA RIERA ESTRADA, declaro que el presente trabajo de titulación de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que proviene de otras fuentes están debidamente citadas y referenciadas.

Como autora asumo 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, 19 de febrero de 2020



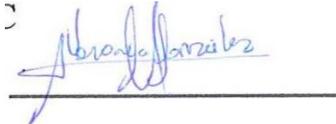
Francheska Zelena Riera Estrada

0202053476

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

CERTIFICACIÓN

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de investigación: “INFLUENCIA DE TEMPERATURA Y SALINIDAD EN EL CRECIMIENTO DE *Listeria* y *Salmonella* EN QUESOS FRESCOS” de responsabilidad de la Srta: Francheska Zelena Riera Estrada, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
BQF. MSc María Verónica Gonzales Cabrera. PRESIDENTE DE TRIBUNAL	 _____	2020-01-21
Ing.MSc.Jesús Ramón López Salazar. DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	 _____	2020-01-21
Ing: Byron Leoncio Díaz Monroy PhD MIEMBRO DEL TRIBUNAL	 _____	2020-01-21

DEDICATORIA

Es un placer dedicar este trabajo de titulación en primer lugar a mis padres, Raúl Riera y a mi madre Jhovita Estrada que siempre fueron y son mi pilar fundamental tanto en mis estudios, como en mi vida

En segundo lugar, quiero mencionar que mis hermanos fueron muy importantes en mi carrera universitaria y por eso, también son a las personas que me enorgullece mencionar en esta dedicatoria

Francheska Riera

AGRADECIMIENTO

Agradezco a todas las personas que hicieron posible que yo haya llegado tan lejos, tanto en mi vida profesional como en mi vida en general, extendiendo un sincero agradecimiento en especial a mis padre y hermanos y a los docentes que tuve a lo largo de mi carrera por haberme brindado todo el apoyo posible, cuando fue necesario.

Francheska Riera

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
INDICE DE GRÁFICOS.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN.....	ix
SUMMARY/ABSTRACT.....	x
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1.	MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	3
1.1.	<i>La Leche</i>	3
1.1.1.	<i>Composición de la leche</i>	3
1.2.	Queso fresco	4
1.2.1.	<i>Propiedades y aportes nutricionales</i>	4
1.2.2.	<i>Control de calidad</i>	5
1.2.3.	<i>Propiedades y aportes nutricionales del queso</i>	8
1.3.	<i>Composición del queso fresco</i>	8
1.3.1.	<i>Los peligros del queso fresco</i>	9
1.4.	Características de <i>Listeria monocytogenes</i>	11
1.4.1.	<i>Epidemiología. Patogenia. y Síndromes Clínicos</i>	11
1.4.2.	<i>Infecciones por Listeria</i>	12
1.4.3.	<i>Brotos Causados Por Listeria Monocytogenes En Queso Fresco</i>	13
1.4.4.	<i>Control Microbiológico</i>	14
1.5.	<i>Salmonella sp</i>	14
1.5.1.	<i>Salmonelosis</i>	15
1.5.1.1.	<i>Causas</i>	15
1.5.1.2.	<i>Síntomas</i>	16
1.5.1.3.	<i>Tratamientos</i>	16

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	17
2.1.	<i>Localización y duración del experimento</i>	17

2.3.	Materiales, Equipos e Instalaciones	17
2.3.1.	<i>Materiales</i>	17
2.3.2.	<i>Equipos</i>	18
2.3.3.	<i>Medios de cultivo</i>	18
2.4.	Tratamiento y Diseño Experimental	18
2.5.	Mediciones Experimentales	19
2.6.	Análisis Estadísticos y pruebas de significancia	19
2.7.	Esquema del experimento	19
2.8.	Procedimiento Experimental	21
2.9.	Metodología de Evaluación	22
2.9.1.	<i>Determinación de Salmonella UFC. g⁻¹</i>	22
2.9.2.	<i>Determinación de Listeria UFC. g⁻¹</i>	23

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	24
3.1.	Determinación de <i>Listeria monocytogenes</i> en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba	24
3.1.1.	<i>Determinación de Listeria monocytogenes en el queso fresco por efecto del lugar de procedencia</i>	24
3.1.2.	<i>Determinación de Listeria monocytogenes, en el queso fresco por efecto de la temperatura de conservación</i>	25
3.1.3.	<i>Determinación de Listeria monocytogenes, en el queso fresco por efecto de la salinidad</i>	26
3.1.4.	<i>Determinación de Listeria monocytogenes en el queso fresco por efecto del lugar de procedencia y temperatura</i>	27
3.1.5.	<i>Determinación de Listeria monocytogenes, en el queso fresco por efecto del lugar de procedencia y salinidad</i>	29
3.1.6.	Determinación de <i>Listeria monocytogenes</i> en el queso fresco, por efecto de la temperatura y salinidad	30
3.1.7.	Determinación de <i>Listeria monocytogenes</i> en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba, por efecto de la interacción entre lugar de procedencia, temperatura y salinidad	31
3.2.	Determinación de <i>Salmonella sp</i> en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba	34

3.2.1.	<i>Determinación de Salmonella sp en el queso fresco por efecto del lugar de procedencia</i>	34
3.2.2.	<i>Determinación de Salmonella sp en el queso fresco por efecto de la temperatura de conservación.....</i>	35
3.2.3.	<i>Determinación de Salmonella sp en el queso fresco por efecto de la salinidad ..</i>	36
3.2.4.	<i>Determinación de Salmonella sp en el queso fresco por efecto de la interacción entre el lugar de procedencia y la temperatura</i>	38
3.2.5.	<i>Determinación de Salmonella sp en el queso fresco por efecto de la interacción entre el lugar de procedencia y salinidad</i>	39
3.2.6.	<i>Determinación de Salmonella sp en el queso fresco por efecto de la interacción entre la temperatura y la salinidad</i>	40
3.2.7.	<i>Determinación de Salmonella sp en el queso fresco por efecto de la interacción entre lugar de procedencia, temperatura y salinidad</i>	42
3.3.	<i>Protocolo de buenas prácticas de manufactura para la producción de quesos frescos.....</i>	45
3.3.1.	<i>Ámbito de operación.....</i>	45
3.3.2.	<i>Términos utilizados</i>	46
3.4.	Requisitos de Buenas Prácticas de Manufactura.....	46
3.4.1.	<i>Instalaciones</i>	46
3.4.1.1.	<i>Ubicación de la planta</i>	46
3.4.1.2.	<i>Diseño e instalaciones.....</i>	47
3.4.1.3.	<i>Pisos, paredes, techos y puertas.....</i>	48
3.4.1.4.	<i>Iluminación.....</i>	49
3.4.1.5.	<i>Ventilación.....</i>	50
3.4.1.6.	<i>Equipos y utensilios</i>	50
3.4.2.	<i>Requisitos higiénicos de fabricación.....</i>	51
3.4.2.3.	<i>Personal</i>	51
3.4.3.	<i>Operaciones de producción</i>	55
3.4.3.1.	<i>Recepción de leche en la planta</i>	55
3.5.	Pasteurización	56
3.6.	Condiciones de envasado, etiquetado y empaquetado.....	58
3.7.	Condiciones de almacenamiento, distribución, transporte y comercialización	58
3.7.1.	<i>Garantía de calidad</i>	59
	CONCLUSIONES.....	61
	RECOMENDACIONES.....	62
	BIBLIOGRAFIA	

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1.	Muestra la comparacion quimica de la leche.....	4
Tabla 2-1.	Requisito queso fresco.....	9
Tabla3-1	Requisitos microbiologicos para quesos frescos no maduros	10
Tabla 4-1:	Principales brotes de Listeriosis asociados al consumo de queso en el mundo.....	13
Tabla 1-2:	Condiciones Meteorológicas del cantón Riobamba	18
Tabla 2-2:	Esquema del Experimento.....	21
Tabla 3-2:	Esquema del Análisis de Varianza (ADEVA).....	22
Tabla 1-3.	Influencia del lugar de procedencia en el crecimiento de <i>Listeria monocytogenes</i> .en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba	24
Tabla 2-3:	Influencia de la temperatura de conservación en el crecimiento de <i>Listeria monocytogenes</i> y en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.	25
Tabla 3-3:	Influencia de la salinidad en el crecimiento de <i>Listeria monocytogenes</i> y en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba	27
Tabla 4-3:	Influencia de la interacción entre lugar de procedencia y la temperatura en el crecimiento de <i>Listeria monocytogenes</i> en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.	28
Tabla 5-3:	Influencia de la interacción entre lugar de procedencia y la salinidad en el crecimiento de <i>Listeria monocytogenes</i> en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.	29
Tabla 6-3:	Influencia de la interacción entre temperatura y salinidad en el crecimiento de <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Salmonella sp</i> en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.	31
Tabla 7-3:	Influencia de la interacción entre el lugar de procedencia, temperatura y salinidad en el crecimiento de <i>Listeria monocytogenes</i> en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.	32
Tabla 8-3:	Influencia del lugar de procedencia en el crecimiento de la <i>Salmonella sp.</i> (UFC.g ⁻¹), en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.....	35
Tabla 9-3:	Influencia de la temperatura en el crecimiento de la <i>Salmonella sp.</i> (UFC.g ⁻¹), en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.	35
Tabla 10-3:	Influencia de la salinidad en el crecimiento de la <i>Salmonella sp.</i> (UFC.g ⁻¹), en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.	37
Tabla 11-3:	Influencia de la interacción ente el lugar de procedencia y la temperatura.....	38

Tabla 12-3: Influencia de la interacción entre lugar de procedencia y la salinidad en el crecimiento de <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Salmonella sp</i> , en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.....	40
Tabla 13-3: Influencia de la interacción entre temperatura y la salinidad en el crecimiento de <i>Salmonella sp</i> , en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.	41
Tabla 14-3: Influencia de la interacción entre el lugar de procedencia, la temperatura y la salinidad en el crecimiento de la <i>Salmonella sp</i> , en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.	43

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-1: Diagrama de flujo de elaboración de queso fresco.....	7
Gráfico 1-3: Influencia de la interacción entre lugar de procedencia, temperatura y salinidad en el crecimiento de <i>Listeria monocytogenes</i> en.....	33
Gráfico 2-3: Influencia de la interacción entre lugar de procedencia, temperatura y salinidad en el crecimiento de <i>Salmonella spp</i> en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.....	44

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A.** EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* EN QUESOS FRESCOS BAJO LA INFLUENCIA DE DIFERENTES TEMPERATURA Y SALINIDAD, EN DIFERENTES QUESERÍAS DEL CANTÓN RIOBAMBA .
- ANEXO B.** EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE *SALMONELLA SP*, EN QUESOS FRESCOS BAJO LA INFLUENCIA DE DIFERENTES TEMPERATURA Y SALINIDAD, EN DIFERENTES QUESERÍAS DEL CANTÓN RIOBAMBA.
- ANEXO C.** PROCESO DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO EN EL TRATAMIENTO # 1 CONSERVADO A 4°C
- ANEXO D.** CHECK LIST DEL PROTOCOLO DE BUENAS PRACTICAS DE MANUFACTURA.

RESUMEN

Este proyecto se enfocó en: conocer la influencia de temperatura y salinidad en el crecimiento bacteriano de *Listeria* y *Salmonella* en quesos frescos, que fueron recolectados en la ciudad de Riobamba, y llevados al laboratorio de biotecnología animal para los respectivos análisis microbiológicos. Las unidades experimentales estuvieron conformaron por cinco quesos de cada una de las tres queseras rurales, con tres repeticiones cada una en diferentes tiempos. Para los análisis microbiológicos se aplicó un muestreo aleatorio en las tres queseras rurales en diferentes días y hora de producción. Los resultados revelaron que al realizar la conservación a 12 grados centígrados existió mayor proliferación de microorganismos presentando una media de 1296,3 UFC. g-1 de *listeria monocytogenes*, en tanto que el con 15% de salinidad existió menor presencia de (259,26 UFC. g-1) de *listeria monocytogenes*. Además, a una temperatura de 12 grados centígrados combinado con una salinidad de 15% se pudo retardar el crecimiento de los microorganismos. El tratamiento de combinación temperatura 4 grados centígrados y salinidad a 5% en las tres queseras presentó mayor carga microbiana por lo que se elaboró un protocolo de buenas prácticas de manufactura y procedimiento operativo estandarizado que deberá ser aplicado en las queseras estudiadas para mejorar la inocuidad del proceso de producción de queso fresco.

Palabras clave: <QUESOS FRESCOS>, <TEMPERATURA>, <SALINIDAD>, <CRECIMIENTO BACTEREANO>, <*Listeria Monocytogenes*>, <*SalmonellaSPP*><CONSERVACION>, <BUENAS PRACTICAS DE MANUFACTURA>.

REVISADO

27 ENE 2020

Ing. Jhonatan Parreño Uquillas, MBA
(ANALISTA DE BIBLIOTECA)

SUMMARY

This project focused on: knowing the influence of temperature and salinity on the bacterial growth of listeria and salmonella in fresh cheeses, they were collected in Riobamba city and taken to the animal biotechnology laboratory for the respective microbiological analyzes. The experimental units were made up of five pieces of cheese from each of the three rural pieces of cheese, with three repetitions each at different times. For the microbiological analyzes, a random sampling was applied in the three rural cheese farms on different days and hours of production. The results revealed that when analyzing conservation at 12 degrees Celsius, there was a greater proliferation of microorganisms presenting a measure of 1296.3 CFU. g-1 of listeria monocytogenes, while with 15% salinity there was less presence of) 259.26 CFU. g-1) Listeria monocytogenes. In addition, at a temperature of 12 degrees, Celsius combined with a salinity of 15%, the growth of microorganisms could be retarded. The combination treatment temperature 4 degrees Celsius and salinity at 5% in the three pieces of cheese presented a greater microbial load, so a protocol of good manufacturing practices and the standardized operating procedure was developed that should be applied in the cheeses studied to improve the safety of the Fresh cheese production process.

Keywords:FRESH CHEESE, TEMPERATURE, SALINITY, BACTERIAL GROWTH, *Listeriamonocytogenes*, *Salmonellaspp*, CONSERVATION, GOOD MANUFACTURE PRACTICES.



INTRODUCCIÓN

En el Ecuador, mensualmente se consumen 1,36 millones de kilos de queso de todas las variedades, lo cual representa un mercado de \$7,03 millones por mes. El consumo promedio por hogar alcanza las 2,5 unidades de 500 gramos; para ello una familia destina en promedio \$6,5 por mes. El 81,5% del mercado de quesos corresponde a la variedad del fresco, que contempla el queso de mesa, de comida, el amasado, el criollo, (Ramos, 2012 pág. 12).

Los quesos hechos con leche sin pasteurizar parecen estar asociados con brotes de intoxicaciones alimentarias con mayor frecuencia que los fabricados a partir de leche pasteurizada, aunque estos también pueden ocasionar toxii infecciones por una inadecuada pasteurización de la leche o porque el queso hecho de leche pasteurizada se contamina posteriormente con microorganismos patógenos, (Alais, 1985 pág. 23)

El consumo de productos procesados en especial de lácteos se ha incrementado en las últimas décadas, sobre todo en las grandes ciudades del Ecuador, provocando el cambio de patrones alimenticios de la población hacia los productos procesados (Cortazar, 2013 pág. 34).

La presencia de *L.monocytogenes* en alimentos pasteurizados suele ser debido a la contaminación después del proceso de tratamiento con calor. Es una bacteria de psicotrópicos, capaz de crecer y multiplicarse durante el almacenamiento en frío e incluso algunas células pueden multiplicarse a un nivel que es peligroso para los consumidores. Sobre 50% de los brotes de listeriosis en Europa han sido asociada a los productos lácteos, las medidas de control especial son necesarias para eliminar la presencia de *L. monocytogenes* en alimentos lácteos (Fundación Vasca para la Salud Alimentaria , 2006)

Cuando las bacterias *Salmonella* pasan de los animales hospedadores a los alimentos derivados (carne, huevos, leche) es capaz de multiplicarse a una velocidad muy elevada, ya que puede duplicar su número cada 15 ó 20 minutos si la temperatura es elevada (superior a 20° C), y más significativamente, si la temperatura ambiente supera los 30°C, ya que su temperatura óptima de crecimiento es de 30-37°C. (ELIKA, 2013)

Si los alimentos no se refrigeran rápidamente (el límite de crecimiento está en 6°C) el microorganismo se multiplica, con el consiguiente riesgo de contaminar los alimentos. Por tanto, temperatura y tiempo son dos factores claves en el desarrollo de la *Salmonella*. Los principales indicadores de la calidad microbiológica de los alimentos se refieren a aquellos patógenos que

producen enfermedades de transmisión alimentaria, entre los más frecuentes son: las intoxicaciones alimentarias, infecciones debido a la presencia de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella sp.* fiebre tifoidea, Hepatitis A, etc. (ELIKA, 2013)

Los quesos por su alta actividad de agua se consideran alimentos de alto riesgo debido a la presencia de microorganismos patógenos los cuales pueden ser controlados mediante los protocolos de buena prácticas de manufactura reduciendo de esta manera la grave problemática de brotes de enfermedades (Organización Panamericana de la Salud, 2015)

En el año 2008, el Ministerio de Salud Pública del Ecuador reportó más de 10000 casos de intoxicación alimentaria, pero no menciona los patógenos que lo causaron ni los alimentos involucrados, razón por la cual los quesos frescos constituyen el principal alimento involucrado en brotes de *Listeriosis* a nivel nacional, regional y mundial. (Ramos, 2012 pág. 22)

La *Listeria monocytogenes* y la *Salmonella Sp.* siguen siendo microorganismos de alto impacto en la salud pública, por lo que se requiere desarrollar investigaciones tendientes a la aplicación de estrategias que permitan la intervención a lo largo de la cadena alimentaria de los lácteos bajo un enfoque de análisis de riesgos, de tal manera que conduzca a la disminución en la incidencia de *Listeriosis* y *Salmonelosis* en base a estudios que permitan determinar la contaminación posterior del proceso de elaboración de quesos frescos (Castañeda, 2002 pág. 32).

El crecimiento de los microorganismos puede reducirse mediante el uso de bajas temperaturas de conservación e incrementando el nivel de salinidad, para restringir su crecimiento y desarrollo, por cuanto el ion cloro del cloruro de sodio al disociarse en los alimentos, restringe el crecimiento, vuelve el oxígeno menos accesible a los microorganismos y produce cambios en la presión osmótica, (Jimenes, 2016 pág. 1).

- Conocer la influencia de la temperatura de conservación y salinidad en el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y *salmonella sp.* en queso frescos.
- Determinar la presencia de los microorganismos indicadores *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spen* quesos frescos provenientes de tres queseras del cantón Riobamba
- Evaluar el crecimiento de *Listeria* y *Salmonella* en diferentes concentraciones de sal al (5,10,15%) y a diferentes temperaturas (4,8,12 °C)
- Elaborar un protocolo de buenas prácticas de manufactura y procedimientos operativos estandarizados de saneamiento para las tres queseras.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. La Leche

Definición de la leche según el INEN Leche. 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. Leche cruda. Leche que no ha sido sometida a ningún tipo de calentamiento, es decir su temperatura no ha superado la de la leche inmediatamente después de ser extraída de la ubre no más de 40°C (INEN, 2012 pág. 1)

Leche es el producto íntegro, sin adición ni sustracción alguna, exento de calostro, obtenido por ordeño higiénico, completo, de vacas sanas y bien alimentadas. Otro concepto menciona que la Leche es la secreción mamaria normal de animales lecheros obtenida mediante uno o más ordeños sin ningún tipo de adición o extracción, destinada al consumo en forma de leche líquida o a elaboración ulterior. (Codex alimentarius, 2011 pág. 11)

Producto lácteo es un producto obtenido mediante cualquier elaboración de la leche, que puede contener aditivos alimentarios y otros ingredientes funcionalmente necesarios para la elaboración. (Codex alimentarius, 2011 pág. 1)

1.1.1. Composición de la leche

La leche proporciona nutrientes esenciales y es una fuente importante de energía alimentaria, proteínas de alta calidad y grasas. La leche puede contribuir considerablemente a la ingestión necesaria de nutrientes como el calcio, magnesio, selenio, riboflavina, vitamina B12 y ácido pantoténico. La leche y los productos lácteos son alimentos ricos en nutrientes y su consumo puede hacer más diversa las dietas basadas principalmente en el consumo de vegetales. La leche de origen animal puede desempeñar un papel importante en las dietas de los niños en poblaciones con bajo nivel de ingestión de grasas y acceso limitado a otros alimentos de origen animal. (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2019)

La especie del animal lechero, su raza, edad y dieta, junto con el estado de lactancia, el número de pariciones, el sistema agrícola, el entorno físico y la estación del año, influyen en el color, sabor y composición de la leche y permiten la producción de una variedad de productos lácteos: (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2019)

Leche de vaca: las grasas constituyen alrededor del 3 al 4 por ciento del contenido sólido de la leche de vaca, las proteínas aproximadamente el 3,5 por ciento y la lactosa el 5 por ciento, pero la composición química bruta de la leche de vaca varía según la raza. Por ejemplo, el contenido de grasa suele ser mayor en el ganado *Bos indicus* que en el *B. taurus*. El contenido de materias grasas de la leche del ganado *B. indicus* puede ser de hasta el 5,5 por ciento, como se indica en la tabla 1-1. (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2019)

Tabla 1-1. Muestra la composición química de la leche

Componente	Valor medio %
Agua	86,9
Proteína	3,5
Gasa	4,0
Lactosa	4,9
Cenizas	0,7

Fuente: (Fernández, 2010 pág. 1)

1.2. Queso fresco

El queso se define como un sistema tridimensional tipo gel, formado básicamente por la caseína integrada en un complejo caseinato fosfato cálcico, el cual, por coagulación, engloba glóbulos de gasa, agua, lactosa, albuminas, globulinas, minerales, vitaminas y otras sustancias menores de la leche, las cuales permanecen en la fase acuosa retenida (Alvaréz, 2009 pág. 34).

1.2.1. *Propiedades y aportes nutricionales*

Destaca las propiedades nutricionales del queso comparte casi las mismas propiedades nutricionales con la leche, excepto porque contiene más grasas y proteínas concentradas. Además de ser fuente proteica de alto valor biológico, se destaca por ser una fuente importante de calcio y fósforo (Licata, 2011 pág. 32).

- **Sistema.** -Se refiere a un conjunto de reglas, principio o medidas que tienen relación en sí.

- **Integral.** -Implica que la gestión de residuos es adecuada.
- **Sistema de gestión integral de residuo.** -Son maneras en cómo se debe aprovechar y manejar los residuos sólidos de una zona.

1.2.2. Control de calidad

Esta operación se realiza en el laboratorio en donde se analiza la acidez y con el apoyo del Ekomilk los resultados correctos de: proteína, contenido de agua, gasa, densidad, sólidos no grasos y punto crioscópico, (García-Islas, 2006 pág. 99).

- **Recepción:** En este proceso realizar dos actividades, la Filtración y la medición. Con la filtración evitar que pasen sustancias extrañas a la leche y la medición de acuerdo a la cantidad de producto a obtener aproximadamente.
- **Descremado:** Las operaciones de producción se realiza en el área de queso fresco (Ver Figura 1 del Anexo 3); en esta operación se descrema el 10% de leche a ser procesada.
- **Pasteurización:** Tiene que llegar a una temperatura de 80 °C, alrededor de 10 a 15 min. En este proceso tiene como finalidad eliminar los microorganismos patógenos que posee la leche.
- **Enfriamiento:** Debe llegar hasta una temperatura de 40°C, para poder adicionar el calcio.
- **Adición de calcio:** La finalidad de adicionar el calcio en la leche es de reponer lo que se ha perdido de este ya que al momento de pasteurizar este tiende a evaporarse porque es una vitamina muy volátil, el calcio ayuda mediante sus iones la formación de puentes entre las micelas de caseína que esta a su vez aumentan su tamaño permitiendo así menor tiempo de coagulación y mejorando la estabilidad de la cuajada, el producto a adicionar se usa 20g/100L. de leche.
- **Adición de cuajo:** Se debe observar que la temperatura este en los 38 °C para proceder a añadir el cuajo, se añade 7% / 100 L. de leche.
- **Reposo:** Para que el cuajo actué en la leche se deja reposar alrededor de 30 min.

- **Corte:** Con la ayuda de la lira de acero inoxidable realizar cortes horizontales y verticales. El corte mejora la consistencia de la cuajada, aumenta el espacio de desuerado y también favorece la evacuación del suero.
- **Batido:** Consta en mover la cuajada circularmente de adentro hacia afuera con la ayuda de la lira, hasta dividir en pequeñas proporciones, aumentando así la salida del suero, obteniendo una cuajada con mejor elasticidad, estabilidad y cohesión.
- **Reposo:** Dejar en reposo aproximadamente 5 minutos hasta que la cuajada descienda a la base de la olla y el suero se levante, para así facilitar el desuerado.
- **Primer Desuerado:** Retirar el 60 % de suero, con la ayuda de un balde previamente desinfectado hacia otra olla de doble fondo.
- **Segundo Batido:** Al igual que el primer batido logan fortalecer el gano de la cuajada.
- **Segundo Desuerado:** Se procede a eliminar el exceso de suero hasta que el suero escasamente cubra a la cuajada.
- **Moldeado:** Esta operación consiste en poner la cuajada en lo moldes respectivos y voltear rápidamente para darle la forma al queso de acuerdo al tipo de pedido que se esté realizando, entre las presentaciones que ofrece la planta.
- **Prensado:** Prensar por 30 min. El prensado ayuda a eliminar el excedente de suero aun retenido en la cuajada, endurecer la masa, unir el gano y mejorar la forma del queso.
- **Desmoldado:** Sacar los moldes y las mallas con mucho cuidado ya que estos deben presentar perfectamente su forma.
- **Salmuerado:** Colocar los quesos por 20 min en la salmuera, la misma que debe estar a 20 °B, la solución está constituida de 100 litros de agua y 32 kg de sal, este proceso nos permite formar la corteza el queso.
- **Refrigerado:** El queso se refrigera a 4°C en donde su consistencia mejora, se encontrará en el cuarto frio hasta su posterior empacado.

- **Empacado y Comercializado:** esta operación de empacado se realiza en el área de empacado para el empacado se debe limpiar los quesos, retirando materiales extraños que se hayan adherido en él y cortar sus contornos sobrantes y colocando en fundas, sellar al vacío. La comercialización se realiza en la misma planta en el área de comercialización

En el gráfico 1-1, se indica el diagrama de flujo de la elaboración de queso tipo fresco en Lácteos San Salvador.

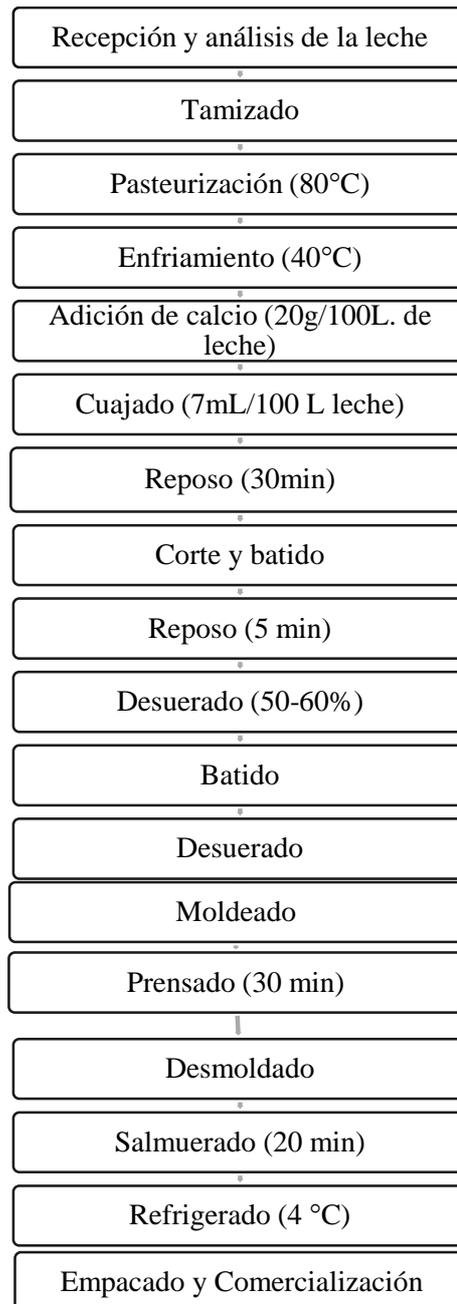


Gráfico1-1: Diagrama de flujo de elaboración de queso fresco.

Fuente:(Ministero del Ambiente , 2012 pág. 1) Boletín No. 15-2016, PNGIDS.

La práctica en torno a la elaboración del queso ha sufrido importantes cambios, transformándola de un arte empírico, a una tecnología industrial con fuertes bases. Son procesos que empieza desde la separación de la fuente hasta la disposición final de todos aquellos residuos sólidos que no pueden ser reciclados o dados otra función más que desecharlos. El queso es un alimento de amplio consumo a nivel mundial, cuyas características nutritivas, funcionales, texturales y sensoriales difieren entre cada tipo, (Muller, 1977 pág. 56).

1.2.3. Propiedades y aportes nutricionales del queso

Desde el punto de vista fisicoquímico, el queso se define como un sistema tridimensional tipo gel, formado básicamente por la caseína integrada en un complejo caseinato fosfato cálcico, el cual por coagulación, engloba glóbulos de grasa, agua, lactosa, albúminas, globulinas, minerales, vitaminas y otras sustancias menores de la leche, las cuales permanecen adsorbidas en el sistema o se mantienen en la fase acuosa retenida, (Cortés, 2001 pág. 54)

Destaca las propiedades nutricionales del queso comparte casi las mismas propiedades nutricionales con la leche, excepto porque contiene más grasas y proteínas concentradas. Además de ser fuente proteica de alto valor biológico, se destaca por ser una fuente importante de calcio y fósforo (Licata, 2011 pág. 43).

La pérdida de agua que acompaña a la fabricación del queso (el agua pasa de constituir un 90% en la leche entera a un 70% en el queso fresco), concentra los principios nutritivos de la leche. En general, los quesos frescos destacan por su contenido de proteínas de alto valor biológico y calcio de fácil asimilación, fósforo, magnesio, vitaminas del grupo B (especialmente, B2 o riboflavina, B12 y niacina) y vitaminas liposolubles A y D. (Spada, 2009 pág. 1)

1.3. Composición del queso fresco

El queso fresco está combinado por un 24 % de grasa, 21 % de proteína, 2 % de carbohidratos, 2 % de sales minerales y el 50% de agua, 1 % de sal de cocina además de las vitaminas A, B, D, E y K. (Majem, 2005 pág. 45)

Los quesos frescos obtienen alto contenido de humedad y no han sido sometidos a un proceso de maduración, habitualmente tiene un sabor a leche fresca o leche acidificada. Su consistencia suele ser pastosa, su color blanco su corteza es muy fina o no la posee. Los quesos frescos tienen un pH de 4,5, alto contenido en humedad (60%) y es consistencia pastosa, como se indica en la tabla 2-1. (Aurelio, 1982 pág. 67).

Tabla1.2-1. Requisito queso fresco

Requisitos	Tipo de queso	Medida	Mín.	Máx	Mét. de ensayo
Humedad	Queso fresco común	%	–	65	INEN 63
	Queso fresco extra húmedo	%	>65	80	INEN63
Grasa	Ricos en grasa	%	>60	–	INEN64
	Grasos	%	>45	60	INEN 64
	Semigrasos	%	>25	45	INEN 64
	Pobres en grasa	%	>10	25	INEN 64
	Desnatados	%	–	10	INEN 64

Fuente(Intituto Nacional de Normalización EcuatorianaINEN, 2012)

1.3.1. Los peligros del queso fresco

El queso fresco se caracteriza por ser un producto poco fermentado, aunque ligeramente ácido (pH en torno a 5,3), muy líquido (actividad del agua de 0,9), con un bajo porcentaje de sal (menor al 3%) y con un potencial de óxido-reducción electronegativo (ausencia de oxígeno). Estas condiciones permiten el desarrollo de muchos microorganismos propios de la leche y de contaminación ambiental (Jerez, 2012 pág. 1)

Los microorganismos más frecuentes que se presentan en el queso fresco debido a un mal manejo en su elaboración son los siguientes, (Licata, 2011 pág. 65):

- Brucella y Mycobacterium. Propios de la materia prima, es decir, de la leche cruda si los animales están enfermos o son portadores. Son los responsables de las fiebres de malta y de la tuberculosis, respectivamente.
- Clostridiumbotulinum. Propia de las superficies, así como de los suelos, polvo e incluso algunas materias fecales contaminadas.
- Salmonella. Microorganismo de origen fecal procedente de animales o de personas portadoras.

- *Staphylococcus aureus*. De origen propio de la piel de animales y personas, pero también abundante en agua y algunas superficies contaminadas con materiales o restos animales contaminados.
- *Listeria monocytogenes*. Microorganismo que podemos encontrar en cualquier parte, aunque sus condiciones más favorables de crecimiento son productos anaerobios y refrigerados. En ellos su velocidad de crecimiento puede ser especialmente alta.
- *Escherichiacoli*. Al igual que *Salmonella*, es un contaminante fecal.

Según la INEN 1528 los requisitos microbiológicos. el análisis microbiológico correspondiente, los quesos frescos no madurados deben dar ausencia de microorganismos patógenos, de sus metabolitos y toxinas.

Los quesos frescos no madurados, ensayados de acuerdo con las normas ecuatorianas correspondientes deben cumplir con los requisitos microbiológicos establecidos en la tabla 3-1.

Tabla 3-1: Requisitos microbiológicos para quesos frescos no madurados

REQUISITO	N	M	M	C	Método de ensayo
Enterobacteriaceas, UFC. g ⁻¹	5	2X10 ²	10 ³	1	NTE INEN 1520 – 13
Escherichiacoli, UFC. g ⁻¹	5	< 10	10	1	AOAC 991,14
Staphylococcus aureus UFC. g ⁻¹	5	10	10 ²	1	NTE INEN 1529-14
<i>Listeria monocytogenes</i> /25 g	5	Ausencia	-		ISO 11290-1
Salmonella en 25 g	5	Ausencia	-	0	NTE INEN 1529 -15

Donde:

n Número de muestras a examinar

m: Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad

M: Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad

C: Número de muestras permisibles con resultados entre m y M.

Fuente: (Intituto Nacional de Normalización Ecuatoriana INEN, 2012)

1.4. Características de *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes pertenece a la familia *Listeriaceae*. Se trata de un bacilo Gram positivo, con un tamaño de 0,5 - 2 x 0,5 micras, patógeno intracelular facultativo del sistema reticuloendotelial y móvil a temperaturas entre 20°C y 25°C. En relación con su metabolismo, es anaerobio facultativo, catalasa positivo y oxidasa negativa. Se distinguen 13 serotipos, siendo el 1/2a, el 1/2b y el 4b los principales causantes de enfermedades en humanos y animales, véase la figura 2-1 (Jimenes, 2016 pág. 34).

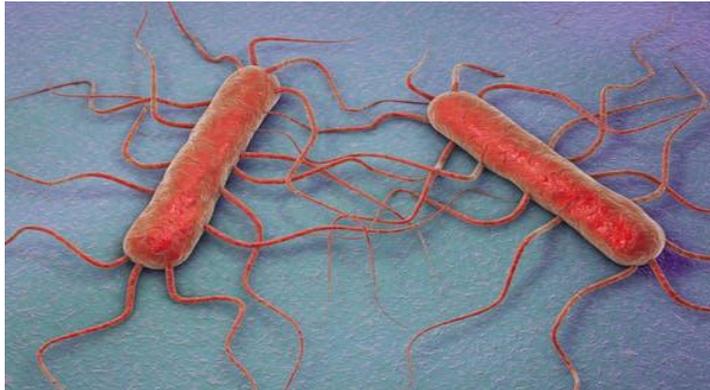


Figura 1-1. *Listeria*, una maestra del camuflaje
Fuente: (Jimenes, 2016 pág. 34).

1.4.1. Epidemiología. Patogenia. y Síndromes Clínicos

L. monocytogenes produce una toxina citolítica y hemolítica, llamada listeriolisina O, que actúa como un importante factor de virulencia. Se trata de una proteína de 52 kD que se secreta a pH bajo y baja concentración de hierro, condiciones presentes en el interior del fagolisosoma, (Cheftel, 1980. pág. 24).

Cuando es fagocitado, el microorganismo empieza a fabricar la listeriolisina, que se fija al colesterol y rompe la membrana del fagolisosoma. Este puede ser el principal factor que favorece su supervivencia intracelular, una de las características patogénicas más definitorias de *L. Monocytogenes*. (Madrid., 2019 pág. 76)

En personas adultas, la listeriosis invasiva se manifiesta como bacteriemia o como meningocéfalitis secundaria a una bacteriemia, con una mortalidad elevada, de hasta el 30%. Se piensa que el tracto gastrointestinal es la puerta de entrada. Son especialmente susceptibles los pacientes de edad avanzada o con patología de base. Entre éstas, hay que hacer especial mención de las neoplasias, sobretodo hematológicas, trasplantes de órganos, colagenosis, diabetes mellitus y SIDA. (Badui, 2012 pág. 49)

Las mujeres embarazadas son especialmente propensas a sufrir bacteriemia por *L. monocytogenes*, representando hasta la tercera parte de los casos descritos. Suele producirse en el tercer trimestre del embarazo y cursar como un cuadro pseudogripal de evolución favorable. Es muy poco frecuente el desenlace fatal en la madre, pero si no se instaura el tratamiento adecuado se suele producir una amnionitis e infección fetal, (Luquet, 1993 pág. 43)

La afectación fetal puede ser causa de aborto, alumbramiento de un niño muerto o parto prematuro de un neonato infectado con el cuadro clínico denominado granulomatosisinfantiséptica. Este proceso se caracteriza por la formación de abscesos o granulomas diseminados en órganos internos como hígado, pulmón, bazo, riñón y cerebro. Las manifestaciones sólo se producen cuando la infección se ha adquirido intraútero, a través de la placenta, y tiene muy mala evolución, con una mortalidad cercana al 100%..(Madrid., 2019 pág. 23)

Hay otro cuadro de listeriosis que afecta a neonatos sin ningún tipo de manifestación clínica en el momento del nacimiento y durante los primeros días de vida. A los 3-4 días de edad, comienzan con un cuadro de fiebre y síntomas pseudocatarrales como consecuencia de una bacteriemia por *L. monocytogenes*. Debido al especial tropismo que tiene esta bacteria por el sistema nervioso central no es infrecuente que durante esta bacteriemia se produzca meningo, (Madrid, 2003 pág. 65)

El Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (Invima) realizó un estudio para la determinación e identificación de *L. monocytogenes* en quesos que se comercializan en Bogotá cuyo resultado evidenció, en quesos frescos, una prevalencia del 26,6% (Instituto Nacional de Salud, 2017 pág. 1)

1.4.2. Infecciones por Listeria

La listeriosis es una enfermedad transmitida por alimentos causada por la listeria *monocytogenes* Puede encontrarse en una variedad de alimentos crudos, así como en alimentos procesados y hechos con leche no pasteurizada. La listeria es distinta a muchos otros gérmenes porque puede crecer incluso dentro de las temperaturas frías de un refrigerador. (Pike, 2018)

Los síntomas incluyen fiebre y escalofríos, dolor de cabeza, malestar estomacal y vómitos. El tratamiento es con antibióticos.(Pike, 2018 pág. 37)

Cualquiera puede contraer la enfermedad. Pero es más probable que afecte a las mujeres embarazadas, fetos, personas de edad avanzada y personas con el sistema inmunitario debilitado. Para reducir el riesgo: (Pike, 2018 pág. 38)

1.4.3. Brotes Causados Por *Listeria Monocytogenes* En Queso Fresco

Los principales brotes de Listeriosis asociados al consumo de queso reportados en el mundo se presentan en la tabla 4-1, De los casos incluidos únicamente dos indican que fueron producidos con leche cruda, y se destaca en este resumen la variedad de quesos (incluidos quesos frescos y madurados). (Instituto Nacional de Salud, 2017 pág. 4)

Tabla 1.4.3-1: Principales brotes de Listeriosis asociados al consumo de queso en el mundo

Año	Tipo de queso	Nº de afectados	Reporte	Tipo de Listeriosis	Serotipo involucrado	País	Referencia
1995	Queso blando	37	11 muertos (29,7%)	I	4b	Francia	(15)
1997	Queso blando elaborado con leche cruda	14	0	NI	4b	Francia	(16)
2000	Queso fresco tipo mexicano elaborado con leche cruda	13	5 abortos (38,5%)	I	ND	Estados Unidos de Norteamérica	(17)
2001	Queso	48	1 hospitalizado (2,1%)	NI	ND	Suecia	(18)
	Queso	38	0	NI	½ b	Japón	(19)
2002	Queso elaborado con leche cruda	17	Abortos 3 (17,6%) Bacteremia 10 (58,8%) Encefalitis 11 (64,7%) Partos prematuros 2 (11,7%)	I	ND	Canadá	(20)
2005	Queso tomme	10	ND	ND	½ a	Suiza	(21)
2007	Queso suave	21	5 muertos (23,8%) 21 hospitalizados (100%)	I	ND	Noruega	(22)
2006	Queso suave	75	13 muertos (17,3%)		1/2 b	República Checa	(23)
	Queso duro	189	145 (81% hospitalizados) 25 (14% muertos)	I	4b y ½ b	Alemania	(24)
2008	Queso Brie	69	ND	I	Clon 4b	Chile	(25)
2009	Queso duro	14	4 muertos (28,6%)	I	½ b. 4b. ½ a	Austria y Alemania	(26)

ND: no hay dato; I: Listeriosis invasiva; NI: Listeriosis no invasiva

Fuente (Instituto Nacional de Salud, 2017 pág. 1)

1.4.4. Control Microbiológico

De acuerdo a (Intituto Nacional de Normalización Ecuatoriana INEN, 2012 pág. 1), que en sus diferentes normas técnicas de queso fresco, en los requisitos microbiológicos se establece que “los quesos frescos no madurados deben dar ausencia de microorganismos patógenos, de sus metabolitos y toxinas.” Los quesos frescos no madurados, experimentados de acuerdo con las normas ecuatorianas correspondientes deben cumplir con los requisitos microbiológicos establecidos,

1.5. *Salmonella sp*

La carga de las enfermedades de transmisión alimentaria es considerable: cada año, aproximadamente una de cada 10 personas contrae la enfermedad y se pierden 33 millones de años de vida sana. Las enfermedades de transmisión alimentaria pueden ser graves, en especial cuando afectan a los niños pequeños. Los alimentos insalubres son la causa más común de las enfermedades diarreicas. Cada año enferman 550 millones de personas, de las cuales 220 millones son niños menores de 5 años. *Salmonella* es una de las cuatro causas principales de enfermedades diarreicas a nivel mundial..(Negri, 2005 pág. 34)

La *Salmonella* es una bacteria que frecuentemente da origen a enfermedades causadas por los alimentos, también conocidas como “intoxicaciones alimentarias”. Los CDC estiman que cada año en los Estados Unidos la *Salmonella* da origen a 1 millón de casos de enfermedades causadas por los alimentos. En los últimos años, los brotes de salmonelosis* han sido vinculados a la contaminación de pepinos, pollo, huevos, pistachos, atún crudo, germinados y muchos otros alimentos, como se indica en la Figura 3-1(Biblioteca Nacional de Medicina de los EE.UU, 2018 pág. 1)

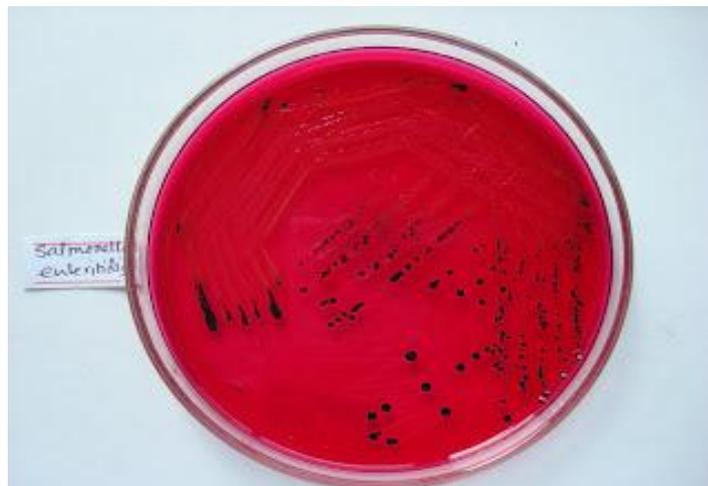


Figura 2.1. Ilustración de la *Salmonella spp*
Fuente:(Biblioteca Nacional de Medicina de los EE.UU, 2018)

Los quesos pueden ser vehículos microorganismos patógenos como *staphylococcus aureus*, *salmonella* y *listeria monocytogenes*. La fuente más importante de contaminación es la leche que sumado a las deficientes condiciones higiénicas del proceso artesanal de fabricación del queso hacen al producto final riesgoso para el consumidor. (Cheftel, 1980. pág. 34)

La temperatura regula el desarrollo microbiano y la actividad de los enzimas. La temperatura óptima para el desarrollo de la flora superficial del queso es de 20- 25°C; las bacterias lácticas mesófitas más rápidamente a 30-35°C, y las termófilas, a 40-45°C. La producción máxima de enzimas tiene lugar generalmente a una temperatura inferior a la óptima de desarrollo y la actividad de los enzimas, generalmente es máxima a 35-45°C.

En la práctica industrial, la maduración se efectúa a temperaturas muy inferiores a las óptimas, generalmente comprendidas entre 4 y 20°C, según las variedades.

1.5.1. Salmonelosis

La salmonelosis es una infección causada por la bacteria *Salmonella*. De acuerdo a los Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés), la salmonellosis causa un estimado de 1,4 millones de casos de enfermedades transmitidas por alimentos y más de 400 muertes anualmente en los Estados Unidos. El reporte de investigación del Programa Activo de Investigación de Enfermedades Transmitidas a través de los Alimentos (FoodNet, por sus siglas en inglés) del 2007, identifica a la *Salmonella* como la infección bacteriana más común reportada, (Cheftel, 1980. pág. 23)

Los síndromes clínicos asociados a alimentos, pueden ser muy variados, comprometiendo desde la esfera gastrointestinal a la neurológica. De todas formas el compromiso gastrointestinal es el más frecuente y la mayoría de estas enfermedades cursan con diarrea y vómitos de variada intensidad, (Alvaréz, 2009 pág. 11).

1.5.1.1. Causas

Cualquier alimento puede estar infectado por la bacteria *salmonella*, si es manipulado por una persona infectada con las manos sucias o si el alimento entra en contacto con otros que están contaminados, es lo que se denomina como “contaminación cruzada” Necesita una temperatura para desarrollarse a 6-46°C, aunque a temperaturas menores a 10°C puede retardar el crecimiento de colonias, se podría evitar el incremento de esta bacteria a temperaturas menores a 7°C, para garantizar la muerte se necesita exceder una temperatura de 49,5°C, (Alvaréz, 2009 pág. 12).

Generalmente la mayoría de personas se infecta por comer alimentos que han sido contaminados. Su infección se la denomina Salmonelosis, su hábitat es en el intestino de los seres humanos y en el reino animal, los síntomas pueden desarrollarse 12 horas a 3 días posteriores al contacto con la bacteria, los cuales son: disentería, hipertermia, calambres ventrales, (Badui, 2012 pág. 12).

Al tratarse de una infección intestinal, la bacteria también se encuentra en las heces de personas infectadas, por eso la higiene personal cobra especial relevancia durante y después de pasar la enfermedad, ya que el no lavarse las manos después de ir al baño y manipular alimentos puede ser el origen de infecciones en otras personas. (Perez, 2019 pág. 2)

Dado que las altas temperaturas favorecen el crecimiento y desarrollo de estos microorganismos, la mayoría de los casos suelen producirse en verano, por lo que es necesario realizar la adecuada manipulación de los alimentos, desde que se producen hasta que se consumen, incide directamente sobre la salud de la población, (Prescal, 2014 pág. 34).

1.5.1.2. Síntomas

Los síntomas de la enfermedad comienzan a manifestarse entre 6 y 72 horas (generalmente 12 a 36 horas) después de la ingesta de Salmonella, y la enfermedad dura entre 2 y 7 días. (Organización Mundial de la Salud, 2018)

En la mayoría de los casos, los síntomas de salmonelosis son relativamente leves y los pacientes se recuperan sin tratamiento específico. Sin embargo, en algunos casos, particularmente en niños pequeños y en ancianos, la deshidratación causada por la enfermedad puede ser grave y poner en peligro la vida. Si bien los grandes brotes de Salmonella suelen atraer la atención de los medios informativos, entre el 60% y el 80% de los casos de salmonelosis no se registran como parte de un brote conocido y se clasifican como casos esporádicos, o ni siquiera se diagnostican (Perez, 2019 pág. 2)

1.5.1.3. Tratamientos

En la mayoría de las ocasiones se autolimita espontáneamente, sin necesidad de tratamiento. En caso de agravamiento, debería ser tratado en un hospital”, La OMS por su parte afirma que en los casos graves el tratamiento es sintomático y consiste en la reposición de los electrolitos perdidos a raíz de los vómitos y la diarrea (mediante el suministro, por ejemplo, de iones de sodio, potasio y cloruro) y la rehidratación, (Pike, 2018 pág. 12).

CAPITULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Localización y duración del experimento

El proyecto se realizó en la ciudad de Riobamba, en el laboratorio de biotecnología animal perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, provincia de Chimborazo, cantón Riobamba a una altitud de 2750 msnm, con una latitud: -1,672711 y una Longitud: -78,648308 y el tiempo de duración de la investigación fue de 60 días, como se indica en la tabla 1-2.

Tabla 2.1-2: Condiciones Meteorológicas del cantón Riobamba.

PARÁMETROS	UNIDADES	VALOR PROMEDIO AÑO 2018
Temperatura	°C	13,10
Precipitación	Mm	558,60
Humedad relativa	%	71,00
Heliofanía	Horas luz	8,5

Fuente: (Estación Agrometeorológica de la Facultad de Recursos Naturales, 2018)

2.2. Unidades Experimentales

Las unidades experimentales se conformaron por cinco quesos de cada una de las tres queseras rurales, con tres repeticiones de cada una en diferentes tiempos, para los análisis microbiológicos se aplicó un muestreo aleatorio en las tres queseras rurales en diferentes días y hora de producción el lugar de realización de los análisis microbiológicos fue el Laboratorio de Biotecnología animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias, de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.3. Materiales, Equipos e Instalaciones

2.3.1. Materiales

- Placas petrifilm
- Pinzas
- Gradilla tubos de ensayo

- Mechero
- Pipetas
- Pipeta de 10ml
- Varilla de agitación
- Pipetas de 1 y 10 ml
- Tubos de ensayo
- Espátula
- Fundas
- Botas
- Mascarilla
- Guantes
- Overol
- Cooler

2.3.2. Equipos

- Microscopio
- Cuenta colonias
- Autoclave
- Congelador
- Cabina de flujo laminar

2.3.3. Medios de cultivo

- Placas Petri film para *Salmonella sp.*
- Pacas Petri film para *Listeria monocytogenes.*

2.4. Tratamiento y Diseño Experimental

En este trabajo se utilizó un diseño Completamente al Azar en arreglo trifactorial en donde el factor “A” corresponder a la procedencia de los quesos, el factor B a los niveles de salinidad y el factor “C” corresponde a los niveles de temperatura. El modelo lineal aditivo con el que se modeló a los resultados se describen a continuación en la presente investigación:

Ecuación 1-2:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \alpha_i * \beta_j * \gamma_k + \epsilon_{ijkl}$$

Y_{ijk} = Valor de la variable.

μ = Media general.

α_i = Efecto del lugar de procedencia de los quesos.

β_j = Efecto de la Temperatura (°C)

γ_k = Efecto de salinidad, (°B)

$\alpha_i * \beta_j$ = Interacción entre la procedencia del queso, la temperatura y la salinidad

ϵ_{ijk} = Efecto del Error experimental.

2.5. Mediciones Experimentales

- Recuento microbiano en placa Petri film para *Salmonella sp.*
- Recuento microbiano en placa Petri film para *Listeria monocytogenes*

2.6. Análisis Estadísticos y pruebas de significancia

- Análisis de varianza (ADEVA).
- Separación de medias mediante Tukey ($P \leq 0,05$ y $P \leq 0,01$)

2.7. Esquema del experimento

El esquema del trabajo experimental se describe a continuación en la tabla 2-2:

Tabla 2.1-2:Esquema del Experimento

Lugar de procedencia	Temperatura Factor B	Salinidad Factor C	Repetición	TUE Gramos	Total UE Gramos
Factor A	°C	%			
Quesera 1	4	5	3	25	75
Quesera 1	4	10	3	25	75
Quesera 1	4	15	3	25	75
Quesera 1	8	5	3	25	75
Quesera 1	8	10	3	25	75
Quesera 1	8	15	3	25	75
Quesera 1	12	5	3	25	75
Quesera 1	12	10	3	25	75
Quesera 1	12	15	3	25	75
Quesera 2	4	5	3	25	75
Quesera 2	4	10	3	25	75
Quesera 2	4	15	3	25	75
Quesera 2	8	5	3	25	75
Quesera 2	8	10	3	25	75
Quesera 2	8	15	3	25	75
Quesera 2	12	5	3	25	75
Quesera 1	12	10	3	25	75
Quesera 2	12	15	3	25	75
Quesera 3	4	5	3	25	75
Quesera 3	4	10	3	25	75
Quesera 3	4	15	3	25	75
Quesera 3	8	5	3	25	75
Quesera 3	8	10	3	25	75
Quesera 3	8	15	3	25	75
Quesera 3	12	5	3	25	75
Quesera 3	12	10	3	25	75
Quesera 3	12	15	3	25	75
TOTAL			81		675

Elaborado: Riera, Francheska, 2019

El Esquema del Análisis de varianza aplicado se describe en la tabla 3-2:

Tabla. 2.3.3-2:Esquema del Análisis de Varianza (ADEVA)

Fuente de Variación	Grados de libertad
Total	80
Factor A	2
Factor B	2
Factor C	2
interacción A*B	4
Interacción A*C	4
Interacción B*C	4
Interacción ABC	8
Error	54

Elaborado: Riera, Francheska, 2019

2.8. Procedimiento Experimental

- Se realizó el muestreo en tres queseras, de los cuales se tomó una muestra de cada 5 quesos para cada repetición. Esto se realizó en cada tratamiento.
- Inicialmente se esterilizó todo el material de vidrio como las pipetas de 1ml y de 10ml, vasos de precipitación junto con la gradilla.
- Posteriormente se tomó muestras de cada 5 quesos para luego añadir en un mortero y homogenizar la muestra.
- En la primera pipeta se colocó 9ml de agua destilada con la ayuda de una pera de succión y un gramo de queso, este proceso se repitió hasta llegar a una dilución a la 10^{-3} .
- Una vez obtenida todas las diluciones se procede a tomar 1ml de la dilución y se colocó en las placas petrificadas para *SamonellayListeria*.
- Luego las placas se colocan en la estufa por un transcurso de 24 a 48 horas.
- Finalmente, transcurrido el tiempo se realiza el conteo de las colonias que han crecido en cada placa para realizar el análisis de cada tratamiento.

2.9. Metodología de Evaluación

2.9.1. Determinación de *Salmonella* UFC.g⁻¹.

Para la determinación microbiológica de *Salmonella* UFC. g⁻¹, se procedió de la siguiente manera:

- Receptar e identificar las muestras.
- Esterilizar los materiales en autoclave por 15 minutos a 120° C (pipetas, tubos de ensayo colocados en una funda de tela).
- Encender la cámara de flujo laminar para la eliminación de posibles contaminantes en el aire (bacterias y levaduras).
- Colocar 15 tubos de ensayo debidamente rotulados en una gradilla y en cada uno poner 9 ml de agua destilada.
- Poner en los tubos de ensayo 1 gramo de las muestras, agitar por un minuto, esta muestra pertenece a la disolución 10⁻¹.
- De la solución anterior tomar 1 ml y colar en la siguiente fila de tubos, correspondiendo a la dilución 10⁻²
- De la solución 10⁻² tomar 1ml de solución y colocar en la última fila de tubos, correspondiendo a la disolución 10⁻³
- Con la solución 10⁻³ sembrar en las placas Petri film 3M.
- Rotular las placas Petri film 3M y colocar 1 ml de solución en el centro de la película inferior con ayuda de una pipeta, en posición inclinada.
- Correr la película superior hacia abajo, evitando la formación de burbujas de aire.
- Presionar con el aplicador el círculo del cultivo.

- Al finalizar la siembra en las placas, poner en la estufa a una temperatura de 37° C durante 24 horas en el caso de *Salmonella*.
- Transcurrido el tiempo de incubación sacar de la estufa y proceder al conteo de colonias e identificar el número de microorganismos presentes.

2.9.2. Determinación de *Listeria* UFC. g⁻¹

La *Listeria monocytogenes* es un bacilo corto, intracelular, que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza 1-9, Este microorganismo es causante de la listeriosis siendo los grupos con más alto riesgo las mujeres embarazadas (en mayor porcentaje), recién nacidos, ancianos, pacientes con enfermedades neoplásicas y personas que tienen el sistema inmunitario deficiente (pacientes con VIH, pacientes con órganos transplantados, etc.) 2-4,6,9,10,

Esta bacteria es una de las patógenas más importantes de origen alimentario, dado que resiste diversas condiciones ambientales, como pH bajo, altas concentraciones de sal y, sobre todo, tiene la capacidad de sobrevivir a temperaturas de refrigeración (2-4 °C) y tratamientos insatisfactorios de pasteurización, logrando que se constituya en una seria amenaza a la seguridad de la industria alimentaria 1,2,5-7,

Para la determinación de *Listeriase* seguirá el mismo procedimiento mencionado anteriormente, el cambio que se realizó es en la utilización de placas Petri film para *Listeria*, y el tiempo de incubación 2 días.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1. Determinación de *Listeria monocytogenes* en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba

3.1.1. Determinación de *Listeria monocytogenes* en el queso fresco por efecto del lugar de procedencia

Al evaluar la presencia de *Listeria monocytogenes* en quesos provenientes de tres diferentes queseras rurales del cantón Riobamba, se aprecia que estadísticamente existen diferencias altamente significativas ($P < 0,01$) por efecto del lugar de procedencia como se muestra en la tabla 8-3, siendo mayor el contenido microbiológico en la quesera 3 con valores de 1940,74 UFC. g⁻¹, seguido de la quesera 2 con un resultado de 555,56 UFC. g⁻¹ y finalmente en la quesera 1, se reporta el menor contenido de *Listeria* con 370,37 UFC.g⁻¹, revisar la tabla 1-3

Tabla 1-3. Influencia del lugar de procedencia en el crecimiento de *Listeria monocytogenes* en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.

VARIABLE	EFECTO DE LA LUGAR DE PROCEDENCIA			EE	Prob	Sign
	Quesera 1	Quesera 2	Quesera 3			
<i>Listeria monocytogenes</i> (UFC. g ⁻¹)	370,37 b	555,56 b	1940,74 a	205,37	<0,0001	**

Elaborado: Riera, Francheska, 2019

** : Altamente significativas ($P < 0,01$).

Ns: No significativa ($P > 0,90$)

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P < 0,05$)

Los resultados en la presente investigación demuestran que la influencia del lugar de procedencia y sus componentes tales como: infraestructura, calidad de materia prima, aplicación de normas

de higiene, capacitación del personal, etc es suficiente para incrementar considerablemente las diferencias estadísticas del crecimiento de *Listeria monocytogenes* en el queso fresco.

3.1.2. Determinación de *Listeria monocytogenes*, en el queso fresco por efecto de la temperatura de conservación

La presencia de *Listeria monocytogenes* por efecto de la variación de la temperatura no muestra diferencias altamente significativas ($P < 0,90$), por efecto de la temperatura sin embargo, alcanza su mayor promedio al aplicar una temperatura de 12 °C con 1296,3 UFC. g⁻¹, aproximándose estadísticamente a los resultados obtenidos a 4 °C y 8 °C, los cuales fueron de 755,56 UFC. g⁻¹, y 814.81 UFC. g⁻¹ respectivamente, como se indica en la tabla 2-3.

Tabla 2-3: Influencia de la temperatura de conservación en el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.

VARIABLE	EFECTO DE LA TEMPERATURA DE CONSERVACIÓN			EE	Prob	Sign
	4 °C	8 °C	12 °C			
<i>Listeria monocytogenes</i> (UFC. g ⁻¹)	755,56 a	814,81 ^a	1296,3a	205,37	0,13	ns

Elaborado: Riera, Francheska, 2019

** : Altamente significativas ($P < 0,01$).

Ns: No significativa ($P > 0,90$)

ab: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P < 0,05$)

Es decir que los resultados manifiestan que numéricamente, en la quesera número 3 existe una mayor proliferación de *Listeria* sin embargo se aprecia que la influencia de la temperatura no es suficiente para incrementar considerablemente las diferencias estadísticas del crecimiento de *Listeria monocytogenes* en el queso fresco de las tres queseras rurales evaluadas

El mayor crecimiento de unidades formadoras de colonias por gramos de *Listeria monocytogenes* en queso fresco de diferentes quesera rurales de la provincia de Chimborazo, se determinó al emplear una temperatura de 12 °C, esto va de acuerdo a lo descrito en investigaciones en las que

se manifiesta que el queso es un alimento de amplio consumo a nivel mundial, cuyas características nutritivas, texturales y sensoriales difieren entre cada tipo

Es necesario conservar su asepsia en la elaboración sobre todo en el contenido de listeria que posee un adecuado desarrollo a temperaturas de refrigeración, pero entre más cercano se encuentre a temperaturas ambiente mayor será su crecimiento, teniendo su desarrollo óptimo a 37°C (Martínez, y otros, 2011),

Los resultados de la presente investigación son inferiores a los reportados por (Acosta, 2015) quien al realizar el trabajo investigativo de elaboración de quesos en la Escuela Agrícola Panamericana muestran que tratamientos con 4 °C de temperatura obtuvieron la menor tasa de crecimiento de *Listeria monocytogenes*, (234,46 UFC.g⁻¹).

Debido a que las condiciones del medio en el que se encontraba la bacteria limitaron la velocidad del crecimiento, en contraste, el tratamiento con 12°C obtuvo un máximo crecimiento gracias a que el patógeno tuvo una mejor adaptación a las condiciones del medio donde se desarrollaron confirmando de esta manera que la influencia de la temperatura sobre el crecimiento de la bacteria es evidente y proporcional, a mayor temperatura mayor contenido microbiológico de *Listeria monocytogenes*.

3.1.3. Determinación de *Listeria monocytogenes*, en el queso fresco por efecto de la salinidad

La *Listeria monocytogenes* muestra diferencias altamente significativas ($P < 0,01$), por efecto de la salinidad, pues la evaluación del análisis de varianza descrita en la tabla 3-3, demuestra la población microbiana más representativa al preparar la sal muera con 5 % de cloruro de sodio con un resultado de 1866,67 UFC. g⁻¹, complementado con valores de 740,74 UFC.g⁻¹, al 10 % y 259,26 UFC. g⁻¹ al 15 %.

Los reportes indicados muestran que existe en una relación estadística alta, es decir que la influencia de la salinidad es suficiente para incrementar considerablemente las diferencias en cuanto al crecimiento de *Listeria monocytogenes* en el queso fresco de las tres queseras evaluadas siendo mayor la presencia de este microorganismo con una salmuera con el 5 % y verificándose un descenso a medida que se incrementa el porcentaje de sal.

Tabla 3-3: Influencia de la salinidad en el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba

VARIABLE	SALINIDAD			EE	Prob	Sign
	5 %	10 %	15 %			
Listeria monocytogenes	1866,67 a	740,74 b	259,26 b	205,37	<0,0001	**

Elaborado: Riera, Francheska, 2019

** : Altamente significativas (P<0,01).

Ns: No significativa (P> 0,90)

ab: Medias con una letra común no son significativamente diferentes (P<=0,05)

El mayor contenido de unidades formadoras de colonias por gramos de *Listeria monocytogenes* en queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba se observó al utilizar en el salmuerado 5 % de cloruro de sodio, lo cual concuerda con lo descrito en investigaciones en las que se muestra que este patógeno puede desarrollarse con normalidad hasta una concentración de 10% de salinidad (Marzocca, y otros, 2004 pág. 1)

(Acosta, 2015), al realizar el estudio del efecto de dos concentraciones de cloruro de sodio y dos temperaturas en el crecimiento de *Listeria monocytogenes* en queso fresco pasteurizado muestran que tratamientos con 2,5% de cloruro de sodio obtuvieron la menor tasa de crecimiento de *Listeria monocytogenes*, debido a que el patógeno tuvo una menor adaptación a las condiciones del medio de desarrollo.

Por otro lado, el tratamiento con 1,5 % de cloruro de sodio obtuvo un máximo crecimiento debido a que las condiciones del medio en el que se encontraba la bacteria facilitaron la velocidad del crecimiento. Confirmando de esta manera que la influencia de la salinidad sobre el crecimiento de la bacteria es evidente e inversamente proporcional, a menor contenido de cloruro de sodio mayor contenido microbiológico de *Listeria monocytogenes*.

3.1.4. Determinación de *Listeria monocytogenes* en el queso fresco por efecto del lugar de procedencia y temperatura

La valoración del contenido microbiológico de *Listeria monocytogenes* en los quesos frescos provenientes de diferentes queseras no se ve afectado estadísticamente por efecto la conjugación bifactorial del lugar de procedencia y temperatura, como se muestra en la tabla 4-3 , registrándose

que no existió diferencias estadísticas significativas ($P < 0,90$), donde sus medias más representativas pero de carácter numérico se obtuvieron a temperaturas de 12 °C para las tres queseras rurales evaluadas , los resultados alcanzan 666,67 UFC.g⁻¹ para la primera y segunda quesera , en tanto que en la tercera quesera el valor fue de 2555,56 UFC. g⁻¹. que es el resultado más alto de la estimación.

Los resultados que se reportaron a una temperatura de 8 °C fueron de 222,22 UFC en la quesera 1; 444.44 UFC. g⁻¹, en a quesera 2 y finalmente de 1777,78 UFC.g⁻¹, Por otro lado, sus valores más bajos pero que son indicativo de menor contaminación del producto (queso fresco), se obtuvieron a una temperatura de 4 °C en los tres lugares de procedencia, obteniendo resultados de 222,22 UFC.g⁻¹, 555,56 UFC.g⁻¹ y 1488,89 UFC. g⁻¹, denotados en la tabla 4-3

Tabla 4-3: Influencia de la interacción entre lugar de procedencia y la temperatura en el crecimiento de *Listeria monocytogenes* en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.

VARIABLES			
Lugar de procedencia	Temperatura (°C)	<i>Listeria monocytogenes</i> (UFC. g ⁻¹)	
Quesera 1	4	222,22	a
	8	222,22	a
	12	666,67	a
Quesera 2	4	555,56	a
	8	444.44	a
	12	666,67	a
Quesera 3	4	1488,89	a
	8	1777,78	a
	12	2555,56	a
EE		355,71	
PROB		0,76	
Decisión Estadística		Ns	

Elaborado: Riera, Francheska, 2019

***: Altamente significativas ($P < 0,01$).

Ns: No significativa ($P > 0,90$)

Medias con una letra común no con significativamente diferentes ($P < 0,05$)

De acuerdo a los reportes del contenido de unidades formadoras de colonias por gramos de *Listeria monocytogenes* en el queso fresco se aprecia que en la quesera 1 y a una temperatura de 4 y 8 °C, se mantienen prácticas de manejo adecuadas puesto que el contenido de este

microorganismo es el más bajo de la investigación (22,22 UFC. g⁻¹), sin embargo estadísticamente se afirma que la influencia del lugar del lugar de procedencia del queso fresco y la temperatura no es suficiente para incrementar considerablemente las diferencias estadísticas del crecimiento de *Listeria monocytogenes* .

3.1.5. *Determinación de Listeria monocytogenes, en el queso fresco por efecto del lugar de procedencia y salinidad*

La valoración del contenido microbiológico de *Listeria monocytogenes*, en el queso fresco de diferentes queseras rurales del cantón Riobamba evidenciaron diferencias altamente significativas (P <0,01) por efecto de la interacción de los factores lugar de procedencia (A) y salinidad (C), , como se muestra en la tabla 5-3, registrándose los mayores resultados que son sinónimo de una alta contaminación en la quesera 3 y con una salinidad de 5 % con medias de 3822,22 UFC.g⁻¹, mientras tanto que en la quesera 2, los valores promedios fueron de 888,89UFC.g⁻¹ con el 5 % de salinidad y en la quesera 3 con el 15 % de salinidad

Tabla 5-3:Influencia de la interacción entre lugar de procedencia y la salinidad en el crecimiento de *Listeria monocytogenes* en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.

Lugar de procedencia	Salinidad (%)	<i>Listeria monocytogenes</i> UFC.g ⁻¹	Rango
Quesera 1	5	888,89	c
	10	222,22	d
	15	0	e
Quesera 2	5	888,89	c
	10	555,56	cd
	15	222,22	d
Quesera 3	5	3822,22	a
	10	1444,44	b
	15	555,56	cd
EE		355,71	
PROB		0,003	
Decisión Estadística		**	

Elaborado: Riera, Francheska, 2019

** : Altamente significativas (P<0,01).

Ns: No significativa (P>0,90)

Medias con una letra común no con significativamente diferentes (P<=0,05)

De la misma manera se registran resultados de 222,22 UFC.g⁻¹, en la quesera 1 y con el 10 % de salinidad y en la quesera 2 con el 15% compartiendo el mismo valor. Por otro lado, se aprecian repuestas de 555,56 UFC. g⁻¹ en las muestras de los quesos de la quesera 2 con el 10 % de salinidad y en la quesera 3 con el 15 % de salinidad, además, los contenidos más bajos de listeria se reportaron cuando se adiciona al salmuerado del queso 15 % de cloruro de sodio, con ausencia total de este microorganismo (0 UFC.g⁻¹), registrado en las muestras de la primera planta.

Los reportes de la presente investigación manifiestan que en la quesera 1 que trabajan con un salmuerado del 15 %, no existe presencia de listeria además se afirma que la influencia del lugar de procedencia y la salinidad es suficiente para incrementar considerablemente las diferencias estadísticas del crecimiento de *Listeria monocytogenes* en el queso fresco.

3.1.6. Determinación de *Listeria monocytogenes* en el queso fresco, por efecto de la temperatura y salinidad

Al evaluar la interacción entre la temperatura y la salinidad en el crecimiento de la *Listeria monocytogenes* se identifica una influencia altamente significativa ($P < 0,01$), como se muestra en la tabla 6-3, siendo mayores los valores obtenidos a una salinidad del 5 % para las temperaturas estudiadas, 4 °C, 8 °C y 12 °C, con 1044,44 UFC.g⁻¹, 1222,22 UFC. g⁻¹ y 333,33 UFC. g⁻¹ en su orden. En contraste, a estos reportes se aprecia que los valores más bajos se obtuvieron al trabajar con el 15 % de cloruro de sodio para cada temperatura, siendo los resultados de 333,3 UFC. g⁻¹ a 4 °C, 444,44 UFC. g⁻¹ a 8 °C y 0 UFC.g⁻¹ a 12 °C.

Es decir que al trabajar con una temperatura de 12 °C, y una salinidad del 15% se inhibe el crecimiento de la bacteria *Listeria monocytogenes*, en el queso fresco sin embargo se aprecia que la influencia de la temperatura y la salinidad en los anteriores tratamientos son suficiente para incrementar considerablemente las diferencias estadísticas del crecimiento de *Listeria* en el queso fresco

Al respecto (Alvaréz, 2009), manifiesta que la *Listeria monocytogenes* es un bacilo corto, intracelular, que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, Esta bacteria es una de las patógenas más importantes de origen alimentario, dado que resiste diversas condiciones ambientales, como pH bajo, altas concentraciones de sal y, sobre todo, tiene la capacidad de sobrevivir a temperaturas de refrigeración (2-4 °C) y tratamientos insatisfactorios de pasteurización, logrando que se constituya en una seria amenaza a la seguridad de la industria alimentaria

Tabla 6-3: Influencia de la interacción entre temperatura y salinidad en el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spen* en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.

Temperatura (°C)	Salinidad (%)	<i>Listeria monocytogenes</i> (UFC. g ⁻¹)	Rango
4	5	1044,44	b
	10	888,89	b
	15	333,33	b
8	5	1222,22	b
	10	777,78	b
	15	444,44	b
12	5	3333,33	a
	10	555,56	b
	15	0	b
EE		355,71	
Prob		0,0007	
Sig		**	

Elaborado: Riera, Francheska, 2019

** : Altamente significativas (P<0,01).

Ns: No significativa (P>0,90)

Medias con una letra común no con significativamente diferentes (P<=0,05)

3.1.7. Determinación de *Listeria monocytogenes* en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba, por efecto de la interacción entre lugar de procedencia, temperatura y salinidad

Al efectuar el análisis de resultados del contenido de *Listeria monocytogenes* de los quesos frescos de las plantas procesadoras estudiadas no se presentaron diferencias significativas (P < 0,90) entre la estadística resultante por efecto de la interacción entre lugar de procedencia, temperatura y salinidad, registrándose que la medias más altas se obtienen a 12 °C y 5 % de cloruro de sodio en las queseras 1 y 2 con 1666,67 UFC.g⁻¹, y por otro lado, en la quesera 3 se alcanza un resultado de 2466,67 UFC. g⁻¹ a 4 °C y 5 %, como se indica en la tabla 7-3.

En este estudio se reportan resultados mínimos de contenido microbiológico a 12 °C y 15 % de cloruro de sodio para las queseras 2 y 3, cuyos valores fueron de 0 UFC. g⁻¹ y 1,30E-12 UFC para cada una, y 0 UFC. g⁻¹ para la quesera 1 a 8 °C y 10 % - 15 %, y a 4 °C con 15 % de salinidad, como se ilustra en el gráfico 1-3.

De acuerdo con estos valores de este trabajo, la cantidad de cloruro de sodio puede estimular o disminuir la presencia de la bacteria con mayor facilidad que la temperatura y lugar de procedencia en una relación inversamente proporcional, Estudios demuestran que *Listeria monocytogenes* desarrolla notablemente con una concentración de 2 - 2,5% de cloruro de sodio a una temperatura menor a 10 °C.

Tabla 7-3:Influencia de la interacción entre el lugar de procedencia, temperatura y salinidad en el crecimiento de *Listeria monocytogenes* en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.

Lugar	Temperatura	Salinidad %	<i>Listeria monocytogenes</i> UFC. g ⁻¹	Rango
Quesera 2	12	15	0	a
Quesera 1	4	15	0	a
Quesera 1	8	15	0	a
Quesera 1	8	10	0	a
Quesera 1	12	15	0,000000000001	a
Quesera 3	12	15	0,0000000000013	a
Quesera 2	8	10	333,33	a
Quesera 2	8	15	333,33	a
Quesera 2	12	10	333,33	a
Quesera 1	4	5	333,33	a
Quesera 1	4	10	333,33	a
Quesera 2	4	5	333,33	a
Quesera 2	4	15	333,33	a
Quesera 1	12	10	333,33	a
Quesera 2	8	5	666,67	a
Quesera 1	8	5	666,67	a
Quesera 3	4	15	666,67	a
Quesera 3	8	15	1000	a
Quesera 2	4	10	1000	a
Quesera 3	12	10	1000	a
Quesera 3	4	10	1333,33	a
Quesera 2	12	5	1666,67	a
Quesera 1	12	5	1666,67	a
Quesera 3	8	10	2000	a
Quesera 3	8	5	2333,33	a
Quesera 3	4	5	2466,67	a
Quesera 3	12	5	6666,67	a

EE: 616,11

Prob: 0,1717

Sign: ns

Elaborado: Riera, Francheska, 2019

** : Altamente significativas (P<0,01).

Ns: No significativa (P>0,90)

Medias con una letra común no con significativamente diferentes (P<=0,05).

Existen varias formas de determinar crecimiento de *Listeria monocytogenes* en diferentes alimentos, una de ellas obteniendo la tasa máxima de crecimiento en el tiempo, el dato se puede obtener a partir de modelos ya establecidos. Esta bacteria ha sido asociada a alimentos tales como la leche, quesos (particularmente variedades blandos madurados), helados y productos cárnicos. Afecta principalmente a los niños, ancianos, mujeres gestantes y personas inmunosuprimidas, ocasionando abortos, meningoencefalitis y meningitis. (ELIKA, 2013)

La normativa ecuatoriana NTE INEN 1528:2012, establece que los quesos frescos no madurados deben tener como índice máximo permisible una ausencia total del patógeno *Listeria monocytogenes* en 25 g de queso fresco para identificar el nivel de buena y aceptable calidad, estos parámetros se guían por la normativa internacional ISO 11290-1 (INEN, 2012).

Los valores más bajos de contenido de este patógeno se encuentran en la quesera 1 a 8 °C y 10 % - 15 %, y a 4 °C con 15 % de salinidad, y la quesera 2 a 12 °C y 15 % de cloruro de sodio, ambas con 0 UFC. g⁻¹ catalogándose como las únicas que cumple con la normativa vigente a esas condiciones. El contenido microbiológico de *Listeria monocytogenes* por efecto de la interacción de las tres variables consideradas, organizado de forma creciente e ilustrado en la figura 1, manifiesta su mayor cantidad en la quesera 3 en condiciones establecidas de 12 °C y 5 % de cloruro de sodio, alcanzando un valor de 6666,67 UFC. g⁻¹.

3.2. Determinación de *Salmonella sp* en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba

3.2.1. Determinación de *Salmonella sp* en el queso fresco por efecto del lugar de procedencia

Al evaluar la presencia de *Salmonella sp* en tres queseras rurales del cantón Riobamba, se aprecia que estadísticamente no existen diferencias significativas ($P > 0,05$) por efecto del lugar de procedencia de la muestra, siendo mayor el contenido microbiológico en la quesera 1 con una media de 989777,78 UFC.g⁻¹, seguido de la quesera 2 con un valor promedio de 437851,85 UFC. g⁻¹ y finalmente en la quesera 3, se reporta el menor contenido de *Salmonella sp* con 301962,96 UFC.g⁻¹, como se indica en la tabla 8-3.

Estos resultados muestran que la influencia del lugar de procedencia no es suficiente para incrementar considerablemente las diferencias estadísticas del crecimiento de *Salmonella sp* en el queso fresco.

Tabla 8-3:Influencia del lugar de procedencia en el crecimiento de la *Salmonella sp.*(UFC.g⁻¹), en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.

VARIABLE	EFECTO DE LA LUGAR DE PROCEDENCIA			EE	Prob	Sign
	Quesera 1	Quesera 2	Quesera 3			
<i>Salmonella sp.</i> (UFC/g)	989777,78 a	437851,85 a	301962,96 a	277336,4	0,188	Ns

Elaborado: Riera, Francheska, 2019

**: Altamente significativas (P<0.01).

Ns: No significativa (P> 0.90)

Medias con una letra común no con significativamente diferentes (P<=0.05)

3.2.2. *Determinación de Salmonella sp en el queso fresco por efecto de la temperatura de conservación*

La evaluación estadística de la presencia de *Salmonella sp* muestra diferencias significativas (P >0,05), por efecto de la variación de la temperatura, sin embargo, alcanza su mayor valor a 4 °C con 905000 UFC.g⁻¹, aproximándose estadísticamente a los resultados obtenidos a 8 °C y 12 °C, los cuales establecen valores promedios de 411629,63 UFC. g⁻¹ y 412962,96 UFC. g⁻¹ respectivamente, como se indica en la tabla 9-3.

Tabla 9-3:Influencia de la temperatura en el crecimiento de la *Salmonella sp.*(UFC.g⁻¹), en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.

VARIABLE	EFECTO DE LA TEMPERATURA			EE	Prob	Sign
	4 °C	8 °C	12 °C			
<i>Salmonella sp.</i> (UFC/g)	905000a	411629,63a	412962,96a	277336,4	0,36	Ns

Elaborado: Riera, Francheska, 2019

**: Altamente significativas (P<0.01).

Ns: No significativa (P> 0.90)

Medias con una letra común no con significativamente diferentes (P<=0.05)

Los resultados de la presente investigación manifiestan que la influencia de la temperatura no es suficiente para incrementar considerablemente las diferencias estadísticas del crecimiento de *Salmonella sp* en el queso fresco.

El mayor crecimiento de unidades formadoras de colonias por gramos de *Salmonella sp* en queso fresco se observó a 4 °C, esto contradice a lo descrito por la literatura en la que se manifiesta que esta bacteria posee un óptimo desarrollo a temperaturas de 30 °C a 37 °C, considerando que entre más cercano se encuentre a estas condiciones mayor será su crecimiento.

Con la obtención de los resultados de los análisis se evalúan las posibles causales en la incidencia de *Salmonella spp.*, en las muestras analizadas, se plantean si hay diferencias entre los métodos de análisis, si la procedencia de quesos muestreadas inciden en la presencia de los microorganismos, y si existe incidencia estadística en los quesos con diferentes temperaturas en su almacenamiento

El contenido de Salmonella en la presente investigación es inferior a los estudios de (Plaza, 2013), quien al realizar el análisis microbiológico en quesos frescos que se expenden en supermercados de la ciudad de Guayaquil, determinando la presencia o ausencia de listeria y salmonella manifiestan que tratamientos para estimular el crecimiento de *Salmonella sp* llegan a utilizar temperaturas de incluso 41 °C a 43 °C durante 16 a 24 horas en caldos selectivos fundamentando de esta manera la incongruencia con los resultados obtenidos de esta experimentación

La posibilidad de la incidencia del factor lugar de procedencia se toma en consideración, pues las tres queseras analizadas poseen protocolos y procedimientos en muchas áreas diferentes siendo un dato importante en la supervivencia y/o proliferación de los microorganismos indicadores, lo cual pudo haber influido en el crecimiento de *Salmonella sp*,

Por lo tanto, a pesar de que los resultados muestren la relación inversamente proporcional entre el crecimiento microbiológico del patógeno y la temperatura, esta debe ser descartada debido a la influencia de otros factores no considerados en la experimentación.

3.2.3. Determinación de *Salmonella sp* en el queso fresco por efecto de la salinidad

En términos de salinidad la *Salmonella sp* muestra diferencias altamente significativas ($P < 0,01$), pues su estadística, descrita en la tabla 10 -3, indica su población microbiana más representativa al 15 % de cloruro de sodio con un resultado de 1558444,44 UFC.g⁻¹, complementado con valores

de 118592,59 UFC.g⁻¹ al 10 % en tanto que los resultados más bajos se describen al utilizar una salinidad del 5 % , con 52555,56 UFC.g⁻¹, como se indica en la tabla 10-3.

Los resultados en la presente investigación demuestran que, la influencia de la salinidad es suficiente para incrementar considerablemente las diferencias estadísticas del crecimiento de *Salmonella sp* en el queso fresco de diferentes queserías rurales del cantón Riobamba .

Tabla 10-3:Influencia de la salinidad en el crecimiento de la *Salmonella sp.*(UFC.g⁻¹), en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.

VARIABLE	EFECTO DE LA SALINIDAD			EE	Prob	Sign
	5 %	10 %	15 %			
	<i>Salmonella sp.</i> (UFC. g ⁻¹)	52555,5 b	118592,59			

Elaborado: Riera, Francheska, 2019

** : Altamente significativas (P<0,01).

Ns: No significativa (P>0,90)

Medias con una letra común no con significativamente diferentes (P<=0,05).

El mayor contenido de unidades formadoras de colonias por gramos de *Listeria monocytogenes* en queso fresco se observó a 5 % de cloruro de sodio, lo cual no concuerda con lo descrito en investigaciones en las que se muestra que este patógeno puede desarrollarse con normalidad hasta una concentración de 10% de salinidad (Marzocca, y otros, 2004), sin embargo es necesario acotar que la *Salmonella* pertenece a un grupo de bacterias que están presentes en el intestino de personas y animales sanos, de forma que las heces son el principal foco de contaminación a los alimentos y al agua. Cuando llega a los alimentos frescos, tiene la habilidad de multiplicarse muy rápidamente, y cuando una persona ingiere dicho alimento contaminando, el gran número de bacterias provoca “salmonelosis”, infección gastrointestinal.

La posibilidad de la incidencia del factor lugar de procedencia se toma en consideración, pues las tres queseras analizadas poseen protocolos y procedimientos en muchas áreas diferentes lo cual pudo haber intervenido en el crecimiento de *Salmonella sp*, por lo tanto, a pesar de que los resultados muestren la relación directamente proporcional entre el crecimiento microbiológico del patógeno y la salinidad, esta debe ser descartada debido a la influencia de otros factores no considerados en la experimentación.

3.2.4. Determinación de *Salmonella sp* en el queso fresco por efecto de la interacción entre el lugar de procedencia y la temperatura

El contenido microbiológico de *Salmonella sp* en los quesos frescos no registró diferencias estadísticas ($P > 0,05$), por efecto de la conjugación bifactorial del lugar de procedencia y temperatura, donde las medias más altas se obtuvieron al aplicar temperaturas de 4 °C en la quesera 1, con promedios de 997555,56 UFC.g⁻¹, seguido de las respuestas reportadas en la quesera en mención pero al conservar a 8°C, con resultados de 996222,22 UFC. g⁻¹, seguido se aprecian los resultados reportados en la quesera 1 con 4 °C, puesto que los valores fueron de 975555,56 UFC.g⁻¹, a continuación se aprecian las respuestas alcanzadas en las muestras de la quesera 2 y 3, con una temperatura de 4 °C, con resultados de 876777,78 UFC. g⁻¹, y 862666,67 UFC.g⁻¹, en su orden, como se indica en la tabla 11-3.

Tabla 11-3: Influencia de la interacción ente el lugar de procedencia y la temperatura en el crecimiento de la *Salmonella sp.*(UFC.g⁻¹), en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.

Lugar de procedencia	Temperatura (°C)	<i>Salmonella sp</i> (UFC.g ⁻¹)	Rango
Quesera 1	4	975555,56	A
	8	996222,22	A
	12	997555,56	A
Quesera 2	4	876777,78	A
	8	217666,67	A
	12	219111,11	A
Quesera 3	4	862666,67	A
	8	21000	A
	12	22222.22	A

EE: 480360,73

PROB: 0,8778

Decisión Estadística: No significativo (ns)

Elaborado: Riera, Francheska, 2019

** : Altamente significativas ($P < 0,01$).

Ns: No significativa ($P > 0,90$)

A continuación, se aprecian los valores más bajos se obtuvieron en la quesera 2 y a 8 °C con respuestas de 217666,67 UFC.g⁻¹ para la quesera 3 y a 8 °C, con 21000 UFC.g⁻¹, para las quesería restantes los valores fluctúan entre 219111,11 UFC.g⁻¹, en el caso de la quesera 2 a 12 °C, y de 22222,22 para la quesera 3, y 12 °C.

Por lo tanto se afirma que de carácter numérico para evitar la proliferación de bacterias del genero salmonella fueron utilizados los mejores protocolos en la quesera 3 y a 8 °C, debido que la temperatura y el tiempo influyen en el desarrollo de patógenos causantes de intoxicaciones alimentarias, ya que necesitan alimento, humedad, calor y tiempo para crecer y multiplicarse. Mantener un producto entre 5°C y 65°C, durante más de dos horas es sinónimo de proliferación de patógenos.

A estas temperaturas, las bacterias pueden duplicar su número cada 20 o 30 minutos. Cuanto más tiempo se mantiene un alimento a temperaturas no adecuadas, mayor es el riesgo de contaminaciones por patógenos.

3.2.5. Determinación de Salmonella sp en el queso fresco por efecto de la interacción entre el lugar de procedencia y salinidad

El análisis estadístico del contenido microbiológico en el queso fresco de Salmonella sp, en diferentes queseras rurales del cantón Riobamba no registra diferencias significativas ($P > 0,05$), por efecto la interacción de los factores que son lugar de procedencia (A) y salinidad (C), como se indica en la tabla correspondiente, determinándose las respuestas más elevadas al utilizar el 15 % de cloruro de sodio en la quesera 1, con valores de 2745111,11 UFC.g⁻¹, quesera 2 con respuestas de 1104888,89 UFC.g⁻¹, y quesera 3, con valores de 825333,33 UFC.g⁻¹ respectivamente, como se describe en la tabla 12-3 .

Además, se reporta contenidos mínimos de *Salmonella sp* al 5 % de salinidad, con respuestas de 45444,44 UFC.g⁻¹ para la primera quesera, 83555,56 UFC. g⁻¹ para la segunda y 28666,67 UFC. g⁻¹ para la tercera quesera siendo en este lugar la menor incidencia de *Salmonella sp*, de la investigación

Al respecto (Badui, 2012), manifiesta que las toxiinfecciones alimentarias provocadas por las especies de los géneros Salmonella, son de gran importancia en los países desarrollados por el gran número de personas infectadas. La presencia de estos microorganismos en un alimento del alto consumo como el queso, representa un alerta en cuanto a los sistemas de gestión de inocuidad llevados a cabo en tales alimentos por tanto es necesario cuidar la preparación de la sal muera que servirá de conservante, que es diferente en las queseras.

Tabla 12-3:Influencia de la interacción entre lugar de procedencia y la salinidad en el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella sp* , en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.

Lugar de procedencia	Salinidad (%)	<i>Salmonella sp</i> (UFC. g ⁻¹)	Rango
Quesera 1	5	45444,44	a
	10	178777,78	a
	15	2745111,11	a
Quesera 2	5	83555,56	a
	10	125111,11	a
	15	1104888,89	a
Quesera 3	5	28666,67	a
	10	51888,89	a
	15	825333,33	a
EE		480360,73	
PROB		0,2215	
Decisión Estadística		No significativo (ns)	

Elaborado: Riera, Francheska, 2019

** : Altamente significativas (P<0,01).

Ns: No significativa (P>0,90)

Medias con una letra común no con significativamente diferentes (P<=0,05)

3.2.6. Determinación de *Salmonella sp* en el queso fresco por efecto de la interacción entre la temperatura y la salinidad

En la evaluación estadística del contenido de *Salmonella sp* no se aprecia influencia estadística (P <0,90), por efecto de la interacción entre la temperatura y la salinidad, estableciéndose los registros mayores en las muestras a las que se aplicó una salinidad del 15 % para las temperaturas estudiadas, 4 °C, con 2522666,67 UFC.g⁻¹, 8 °C con respuestas de 1075666,67 UFC.g⁻¹ y finalmente con y 12 °C 1077000 UFC.g⁻¹, respectivamente, como se indica en la tabla 13-3.

En tanto que los contenidos más bajos de salmonella se reportaron en las muestras de queso fresco, a las que se aplicó una salinidad del 5 % de cloruro de sodio y 4 °C de temperatura con valores de 34666,67 UFC.g⁻¹ con 8 °C con registros de 60333,33 UFC.g⁻¹ y con 2 °C los resultados fueron de 62666,67 UFC. g⁻¹ a 12 °C.

Tabla 13-3:Influencia de la interacción entre temperatura y la salinidad en el crecimiento de *Salmonella sp*, en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.

Temperatura (°C)	Salinidad (%)	<i>Salmonella sp</i> (UFC. g ⁻¹)	Rango
	5	34666,67	a
4	10	157666,67	a
	15	2522666,67	a
	5	60333,33	a
8	10	98888,89	a
	15	1075666,67	a
	5	62666,67	a
12	10	99222,22	a
	15	1077000	a

EE: 480360,73

Prob: 0,422

Decisión estadística No significativo (ns)

ns

Elaborado: Riera, Francheska, 2019

** : Altamente significativas (P<0,01).

Ns: No significativa (P> 0,90)

Medias con una letra común no con significativamente diferentes (P<=0,05)

En la valoración del crecimiento de salmonela en el queso fresco se aprecia que la influencia de la temperatura y la salinidad no es suficiente para incrementar considerablemente las diferencias estadísticas, sin embargo (Badui, 2012 pág. 23), señala que cuando las bacterias *Salmonella* pasan de los animales hospedadores a los alimentos derivados (carne, huevos, leche) es capaz de multiplicarse a una velocidad muy elevada, ya que puede duplicar su número cada 15 ó 20 minutos si la temperatura es elevada, y más significativamente, si la temperatura ambiente supera los 30°C, ya que su temperatura óptima de crecimiento es de 30-37°C.

La mayoría de los patógenos crecen más rápido alrededor de los 40°C. Por tanto, el tiempo que los alimentos deben mantenerse a esta temperatura es mucho menor que en los productos a 20°C. Por todos estos motivos, es fundamental conocer los principios de control de tiempo y temperatura, así como saber la manera de descongelar los alimentos de forma correcta o cómo cocinar una variedad de productos distintos, a la temperatura adecuada y en el tiempo preciso.

3.2.7. *Determinación de Salmonella sp en el queso fresco por efecto de la interacción entre lugar de procedencia, temperatura y salinidad*

Al efectuar el análisis de resultados del contenido de *Salmonella spp* de los quesos frescos de las plantas procesadoras estudiadas no se presentaron diferencias significativas ($P < 0,90$) entre tratamientos por efecto de la interacción entre lugar de procedencia, temperatura y salinidad, registrándose que los valores más sobresalientes se obtienen en las muestras en la quesera 1 a 8 °C y con un 15 % de salinidad con valores de 2760666,67 UFC.g⁻¹ seguido de los resultados alcanzados en la quesera a 4 °C y 15 % de cloruro de sodio en las queseras con valores de 2714000 UFC.g⁻¹, así como también en las muestras de la quesera 2, con 4 °C y una salinidad de 15 %; a continuación se aprecian las respuestas de 2414000 UFC. g⁻¹, en la quesera 3 con 4 °C, y 15 % de salinidad.

Así como también en la quesera 2 y 15 % de salinidad pero con 8 y 12 °C, se registraron valores de 436333,33 UFC.g⁻¹ y 438333,33 UFC.g⁻¹, en su orden, luego se aprecian valores de 18200 en la quesera 1 con 8 °C y 10 % de salinidad y 12 °C y 10 % de salinidad, respectivamente, como se ilustra en el gráfico 2-3.

En contraste, se reportan resultados mínimos de contenido microbiológico a 8 °C y 5 % de cloruro de sodio, cuyos valores son 46000 UFC. g⁻¹ para la planta 1 y 107000 UFC. g⁻¹ para la planta 2, Mientras tanto que las respuestas más bajas fueron registradas en las muestras de la quesera 1 a 12 °C con el 5 % de salinidad puesto que los valores fueron de 5000 UFC. g⁻¹ así como también en la quesera 3 a 8 °C y con una salinidad de 10 % . , datos presentes en la tabla 14-3.

Es decir que 1 y 3 se reporta los contenidos mínimos de *Salmonella spp*, por lo tanto se afirma que uno de los principales errores es considerar que la temperatura es el único factor que influye en la eliminación de patógenos. El tiempo en minutos también marca la diferencia para prevenir bacterias, así como la salinidad y los métodos de producción en cada uno de los lugares que procesan el queso. Si bien la cocción reduce los patógenos, no destruye las esporas o toxinas que puedan haber producido. Cada alimento contiene distintos patógenos, por tanto, requiere unas necesidades diferentes en cuanto a tiempo temperatura y salinidad.

La normativa ecuatoriana NTE INEN 1528:2012, establece que los quesos frescos no madurados deben tener como índice máximo permisible una ausencia total del patógeno *Salmonella sp* en 25 g de queso fresco para identificar el nivel de buena y aceptable calidad, estos parámetros se guían por la normativa nacional NTE INEN 1529-15 (INEN, 2012).

Tabla 14-3:Influencia de la interacción entre el lugar de procedencia, la temperatura y la salinidad en el crecimiento de la *Salmonella sp* , en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.

Lugar	Temperatura	Salinidad %	<i>Salmonella sp</i> (UFC. g ⁻¹)	Rango
Quesera 3	8	10	5000	A
Quesera 3	12	10	6000	A
Quesera 3	8	5	28000	A
Quesera 3	12	5	28666,67	A
Quesera 3	4	5	29333,33	A
Quesera 3	8	15	30000	A
Quesera 3	12	15	32000	A
Quesera 2	4	5	34333,33	A
Quesera 1	4	5	40333,33	A
Quesera 1	8	5	46000	A
Quesera 1	12	5	50000	A
Quesera 2	8	5	107000	A
Quesera 2	12	5	109333,33	A
Quesera 2	12	10	109666,67	A
Quesera 2	8	10	109666,67	A
Quesera 3	4	10	144666,67	A
Quesera 2	4	10	156000	A
Quesera 1	4	10	172333,33	A
Quesera 1	8	10	182000	A
Quesera 1	12	10	182000	A
Quesera 2	8	15	436333,33	A
Quesera 2	12	15	438333,33	A
Quesera 3	4	15	2414000	A
Quesera 2	4	15	2440000	A
Quesera 1	4	15	2714000	A
Quesera 1	12	15	2760666,67	A
Quesera 1	8	15	2760666,67	A

EE 832009,19

Prob 0.422

Sig: No significativo (ns)

Elaborado: Riera, Francheska, 2019

**: Altamente significativas (P<0,01).

Ns: No significativa (P> 0,90)

Medias con una letra común no con significativamente diferentes (P<=0,05)

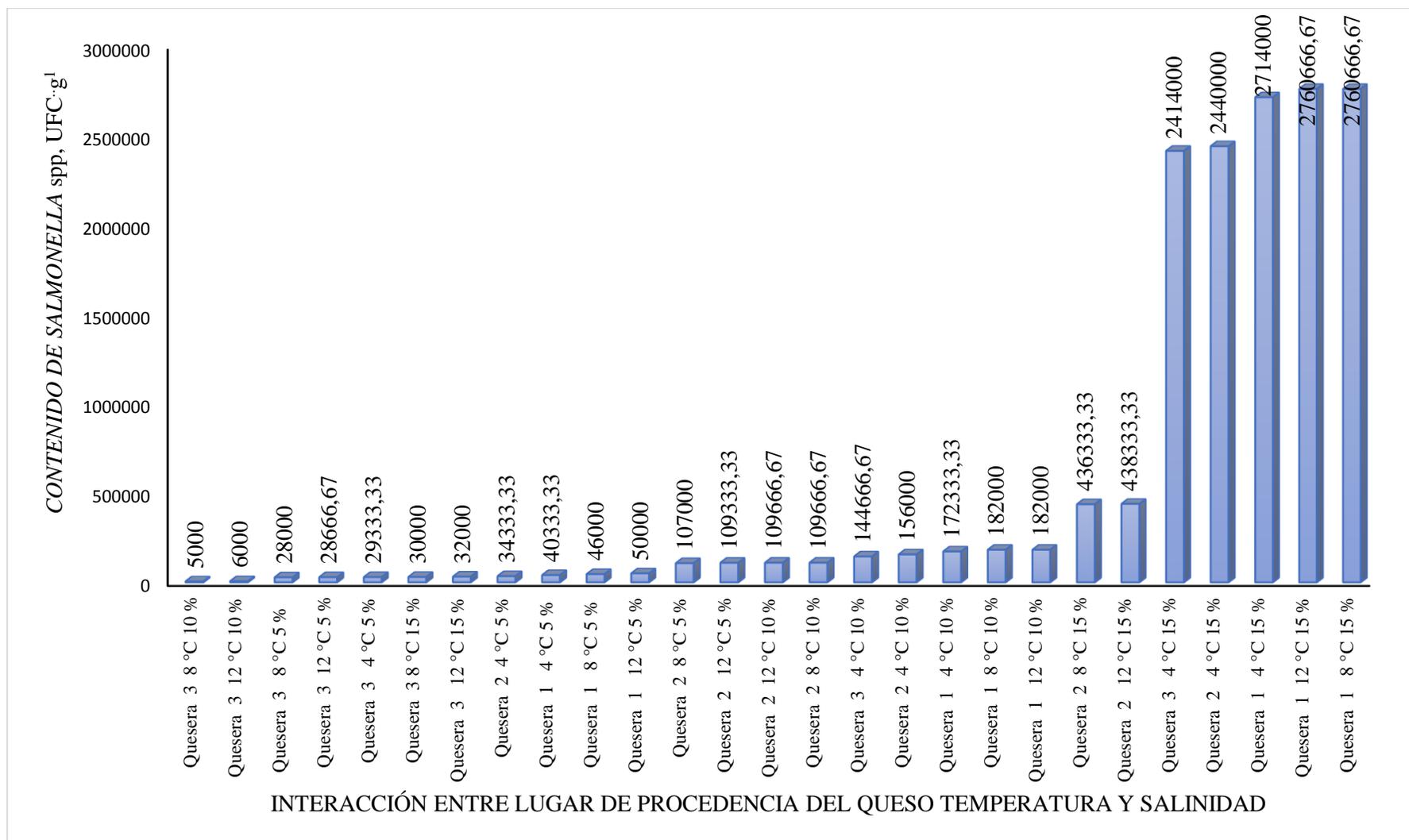


Gráfico 2-3. Influencia de la interacción entre lugar de procedencia, temperatura y salinidad en el crecimiento de *Salmonella spp* en el queso fresco de tres queseras rurales del cantón Riobamba.

Elaborado: Riera, Francheska, 2019.

Los valores mínimos de contenido de este patógeno se encuentran en la quesera 3 a 8 °C y 10 % de cloruro de sodio con 5000 UFC. g⁻¹, aunque es el valor mínimo este no cumple con la normativa vigente al igual que las otras plantas productoras.

El contenido microbiológico de *Salmonella sp* por efecto de la interacción de las tres variables consideradas, organizado de forma creciente e ilustrado en la figura 2, manifiesta su mayor cantidad en la quesera 1 en condiciones establecidas de ,12 °C y 8 °C, y 15 % de salinidad, alcanzando un valor de 2760666,67 UFC. g⁻¹.

3.3. Protocolo de buenas prácticas de manufactura para la producción de quesos frescos

3.3.1. Ámbito de operación

Para minimizar el crecimiento de contenido microbiológico de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella sp* la disposición obligatoria de un Manual de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) es evidente, este manual debe aplicarse en todo el proceso, partiendo de la recepción de la leche, continuando con la manipulación, transformación, envasado, almacenamiento y terminado con la distribución del producto.

La normativa vigente que rige las Buenas Prácticas de Manufactura en la industria alimenticia en nuestro país es el Decreto Ejecutivo 3253, en el Registro Oficial 696 del año 2002 y complementada con los requisitos generales de higiene alimentaria descritas en el Codex Alimentarius de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, los cuales se toman como base bibliográfica para el protocolo de buenas prácticas de manufactura para el saneamiento de quesos frescos. Los beneficios de la aplicación de este manual en una planta de quesos son:

- Mayor eficiencia del proceso de producción de queso fresco y por ende mayor rendimiento del mismo.
- Líneas de producción óptimas
- Minimización de quejas, devoluciones y rechazos.
- Reducción de costos de producción u ahorro de recursos.
- Mayor confianza de los consumidores.

- Personal mejor capacitado y posibilidad de apertura en nuevos mercados nacionales e internacionales.

3.3.2. Términos utilizados

- **Buenas Prácticas de Manufactura (BPM):** Medidas de higiene aplicadas en el proceso de elaboración y distribución de alimentos, consignadas a asegurar su calidad sanitaria e inocuidad.
- **Cadena Alimentaria:** Etapas que comprenden los alimentos desde la producción primaria hasta el consumo final. La cadena alimentaria incluye las siguientes etapas: adquisición de insumos (transporte), recepción, almacenamiento, salida, producción, servido y consumo.
- **Desinfectante:** Sustancia química que elimina completamente todos los organismos listados en su etiqueta. Los organismos a los que mata son patógenos que causan enfermedades. Los desinfectantes pueden reducir el nivel de bacterias en un 99,999 % durante un lapso superior a 5 minutos a 10 minutos.
- **Inocuidad:** Acciones que garantizan la ausencia de contaminantes en los alimentos.
- **Limpieza:** Minimización de la suciedad presentada en forma de tierra, restos de alimentos, polvo u otras materia. Se lleva a cabo mediante raspado, frotado, barrido o pre-enjuagado de superficies y posterior aplicación de detergente.
- **Principios Generales de Higiene:** Medidas esenciales de higiene aplicables a lo largo de la cadena alimentaria, con la finalidad de lograr que los alimentos sean inocuos y aptos para el consumo humano.

3.4. Requisitos de Buenas Prácticas de Manufactura

3.4.1. Instalaciones

3.4.1.1. Ubicación de la planta

- La ubicación de la planta quesera es de vital importancia debido a que determina la distancia entre esta con los centros de producción primaria de leche. A mayor distancia, mayor el riesgo de acopiar leche acidificada o en términos generales de menor calidad.

- La planta quesera debe instalarse en su propia área alejada de los establecimientos que realicen actividades de riesgo como la proliferación de plagas o cualquier otro tipo de contaminación.
- La planta no debe instalarse en zonas que antes hayan sido rellenos sanitarios, cementerios, o que sean propensas a sufrir desastres naturales como inundaciones, deslizamientos, etc.
- El mantenimiento de las instalaciones externas de la planta debe ser periódico eliminando la presencia de hierbas, pastizales, matorrales, charcos de agua y todo aquello que sea una atracción o refugio para insectos y roedores.
- La planta debe ser utilizada exclusivamente para la elaboración de productos lácteos, en especial quesos, de esta manera se disminuye la posibilidad de contaminaciones cruzadas.
- La planta de alimentos debe contar con los respectivos permisos de funcionamiento provenientes de la municipalidad e instituciones específicas como el Ministerio del Ambiente, entre otros.
- Se debe elaborar una cartilla de autoevaluación con todos los parámetros anteriormente mencionados para conocer las condiciones de la ubicación de la planta y en base a ello tomar medidas que solucionen las deficiencias.

3.4.1.2 *Diseño e instalaciones*

- La sección 4 y 2,3 supra del Código Internacional Recomendado de Prácticas - Principios Generales de Higiene de los alimentos. CAC/RCP 1-1969 norma el diseño e instalaciones que debe tener una planta incluyendo la estructura física e instalaciones, distribución de ambientes y ubicación de equipos de los establecimientos.
- La planta debe elaborar un plano o croquis que defina claramente cada área de la planta describiendo gráficamente sus entradas y salidas (incluyendo las de emergencia), pasillos, servicios, etc.
- Se debe tener y adecuar un área de vestidores con servicio de casilleros para el personal.

- Los materiales de las instalaciones deben ser los adecuados para no contaminar el proceso mediante la transmisión de sustancias extrañas al producto.
- Todas las edificaciones deben estar constituidas por materiales nobles y mantenerse en buen estado con revisiones y ajustes periódicos según lo amerite.
- La planta debe contar con aislamiento térmico en las áreas donde existan los riesgos físicos por variaciones de temperatura y extractores de gas en el caso de emisiones de olores.
- Las instalaciones deben facilitar la limpieza adecuada y la consecuente inspección de la misma para evitar la proliferación de patógenos y otros contaminantes.
- Todos los insumos utilizados en el proceso deben tener su respectivo registro sanitario, especificaciones (fecha de elaboración y vencimiento) e instrucciones de uso en sus etiquetas.
- Se deben hacer por lo menos dos veces al año revisiones técnicas de los equipos e implementos de las instalaciones de la planta.
- La planta debe contar con un diagrama de la línea de producción del queso fresco a través de las diferentes áreas por donde este se desarrolle.
- Se debe elaborar una cartilla de autoevaluación con todos los parámetros anteriormente mencionados para conocer las condiciones de las instalaciones y el diseño de la planta para posteriormente tomar medidas que solucionen las deficiencias.

3.4.1.3. Pisos, paredes, techos y puertas

- Deben estar contruidos (materiales y accesos) de manera que faciliten su limpieza y desinfección, para mantener condiciones de inocuidad del proceso.
- No deben tener grietas, agujeros o irregularidades a lo largo de su superficie o uniones.
- Su superficie debe estar constituida por materiales que proporcionen una superficie lisa, antideslizante y no absorbente.
- Deben presentar resistencia en términos de estructura a la acción de roedores e insectos.

- Las uniones entre paredes, y, entre piso y paredes deben ser curvadas para facilitar su limpieza y disminuir la acumulación de contaminantes de cualquier tipo.
- Los pisos deben tener desagües con su respectiva pendiente para facilitar la evacuación rápida del agua de desecho o la limpieza de la misma.
- El piso del almacén debe estar construido de tal manera que soporte el peso de cualquier material o sustancia química.
- Las paredes e instalaciones deben estar construidas herméticamente de modo que impidan la entrada de animales, insectos, roedores y/o plagas u otros contaminantes como humo, vapor, etc.
- Se debe elaborar una cartilla de autoevaluación con todos los parámetros anteriormente mencionados para conocer las condiciones de los pisos, paredes, techos y puertas de la planta para posteriormente tomar medidas que solucionen las deficiencias.

3.4.1.4. Iluminación

- El establecimiento debe tener fuentes de luz artificial o acceso a luz natural de tal manera que no comprometa la higiene de los alimentos.
- Los focos o fluorescentes deben contar con protectores en caso puedan romperse para evitar posibles accidentes.
- La iluminación no debe influir en los colores naturales de la materia prima, insumos o producto.
- Las instalaciones eléctricas exteriores a la planta deben estar recubiertas por tubos o cinta aislante.
- No debe haber cables colgantes o cortados sobre las zonas de la línea de producción de queso.
- De acuerdo al Decreto Ejecutivo 3253, en el Registro Oficial 696 del año 2002 la planta debe tener una caja de llaves eléctricas, debidamente señalizada. Además, estas deben tener sus respectivas llaves térmicas y aisladas en caso de corto circuito.

- Se debe elaborar una cartilla de autoevaluación con todos los parámetros anteriormente mencionados para conocer las condiciones de iluminación de la planta para posteriormente tomar medidas que solucionen las deficiencias.

3.4.1.5. Ventilación

- Las entradas y salidas de aire deben ser las suficientes para mantener un ambiente interno de trabajo adecuado evitando el calor excesivo y la acumulación de gases.
- La corriente de aire debe tener una dirección proveniente de una zona limpia a una contaminada, nunca al revés.
- Los conductos de ventilación deben permitir el fácil acceso del personal específico para procesos de desinfección.
- La ventilación puede complementarse con corrientes provenientes de ventanas, puertas y tragaluces abiertos, siempre considerando que el ingreso de plagas y contaminantes de cualquier tipo debe ser mínimo.
- Se debe elaborar una cartilla de autoevaluación con todos los parámetros anteriormente mencionados para conocer las condiciones de ventilación de la planta para posteriormente tomar medidas que solucionen las deficiencias.

3.4.1.6. Equipos y utensilios

- Deben estar diseñados de tal manera que faciliten la limpieza y desinfección de los mismos.
- Los materiales deben estar constituido por materiales que eviten la impregnación de olores o sabores extraños al queso y la presencia de patógenos proveniente de cualquier fuente.
- Deben estar constituidos por materiales no absorbentes y resistentes a la corrosión.
- Los materiales de los equipos y utensilios deben resistir continuas operaciones de limpieza y desinfección.
- Sus superficies deben ser lisas es decir no presentar orificios, grietas e irregularidades.

- Los equipos deben contar con un uso establecido permanente para tener un protocolo fijo de limpieza.
- La calibración de equipos y utensilios debe ser realizado por instituciones de calibración acreditadas por el Servicio Ecuatoriano de Normalización (INEN).
- Se debe tener a total disposición los implementos para el análisis de calidad higiénica y físico-química de la leche para la elaboración del queso fresco, estos son: alcohol de 68-72°C, termo-lactodensímetro, etc.
- Se debe elaborar una cartilla de autoevaluación con todos los parámetros anteriormente mencionados para conocer las condiciones de los equipos y utensilios de la planta para posteriormente tomar medidas que solucionen las deficiencias.

3.4.2. *Requisitos higiénicos de fabricación*

3.4.2.3. *Personal*

- Los operarios, inspectores y supervisores deben gozar de buena salud para evitar las contaminaciones por patógenos, virus y cualquier otro tipo.
- El personal debe notificar al jefe de la planta de quesos, cuando presenten alguna dolencia o enfermedad, como: diarreas, vómitos, fiebre, dolor de garganta, erupciones cutáneas, etc.
- Debe ser totalmente prohibido consumir los productos que se están elaborando en medio del proceso, existen áreas destinadas específicamente para la cata de las propiedades organolépticas de los quesos.
- No deben fumar mientras tengan la indumentaria de trabajo dentro o fuera de la empresa, pues los olores, entre otros contaminantes, del cigarrillo se quedan impregnados en los materiales.
- La indumentaria dentro de la planta debe constar de mascarilla, guantes, botas, mandil, pantalón de color blanco, los mismos que deben mostrar un buen estado de conservación y aseo.

- El personal no debe trabajar usando ropa diferente a la indumentaria establecida sobre el uniforme, pueden ser chompas, camisetas, etc.
- Deben contar por lo menos con dos juegos de la vestimenta o uniforme de la empresa.
- La indumentaria de trabajo completo se usa antes y durante el turno de trabajo, dentro de las instalaciones de la planta.
- No se debe colocar ropa ni objetos personales en las zonas de procesamiento.
- El uso de guantes para la manipulación de los equipos, materias primas, insumos, utensilios y productos es siempre obligatorio, y estos no justifican el mal aseo de las manos.
- El uniforme se viste llevando la camisa dentro del pantalón y las mangas no remangadas.
- Con respecto a los equipos de protección, el tapaboca debe cubrir completamente la nariz y boca, y la gorra debe cubrir completamente el cabello para evitar la contaminación del producto o la línea de producción.
- En la línea de proceso el personal no debe usar aretes, pulseras, anillos o cualquier otro adorno cuando se manipulen los alimentos.
- Los trabajadores no deben introducir los dedos en la nariz, orejas y boca; tampoco deben rascarse ninguna parte del cuerpo, estas acciones minimizaran la contaminación biológica del producto.
- El personal debe estar capacitado sobre la importancia de las prácticas de higiene y el buen uso de las nuevas tecnologías implementadas en la planta.
- Se debe elaborar una cartilla de autoevaluación con todos los parámetros anteriormente mencionados para conocer las condiciones del personal de la planta para posteriormente tomar medidas que solucionen las deficiencias.

En cuanto a la capacitación del personal:

- Los operarios deben conocer y reforzar las definiciones de inocuidad, higiene y sanidad, de tal manera que entiendan los propósitos de este manual.

- El personal debe estar capacitado en la importancia de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA), pues los operarios pueden ser la fuente de contaminación en la línea de producción o sus acciones pueden originar el desarrollo de patógenos extraños si no se toma en consideración las indicaciones mencionadas.
- El personal y en especial los dirigentes de la empresa deben conocer los objetivos de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y los Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES).

Los trabajadores de la planta deben tener fácil acceso a los manuales BPM y POES.

- La planta debe contar con un plan de capacitación sobre higiene para los trabajadores, sobre todo para aquellos que tienen contacto directo con la línea de producción.
- Las capacitaciones deben ser concretas, sus capacitadores deben ser dinámicos y manejar un vocabulario sencillo para facilitar la comprensión de los trabajadores.
- El uso de material gráfico como imágenes, videos y fotos es esencial para el entendimiento de los conceptos tratados en las capacitaciones.
- El personal debe tener claro el procedimiento de lavado de manos previo a cualquier actividad, en especial, aquellas acciones que intervengan con el producto final.
- Los trabajadores deben conocer los peligros y riesgos que existen en cada uno de los puestos de trabajo y en general de la planta.
- En las paredes de la planta a vista de todos debe colocarse estratégicamente rótulos que expliquen la importancia de la higiene personal.
- Los trabajadores deben estar capacitados para realizar la limpieza correspondiente de sus áreas de trabajo y las diluciones de detergentes y desinfectantes, en caso de que tengan que realizar esas acciones.
- Se debe elaborar una cartilla de autoevaluación con todos los parámetros anteriormente mencionados para conocer las condiciones de las capacitaciones del personal de la planta para posteriormente tomar medidas que solucionen las deficiencias.

3.4.2.4. *Materias primas e insumos*

- Se debe evitar la contaminación de materias primas y productos vencidos mediante la adecuada definición y señalización de las diferentes áreas de la planta como procesamiento y almacenamiento de materias primas, insumos y productos terminados.
- Los utensilios a utilizarse para la manipulación de materias primas e insumos deben ser lavados con agua potable y desinfectados mediante un protocolo fijo, antes y después del procesamiento del queso.
- Las condiciones de conservación de los insumos deben acoplarse a las indicaciones dadas por el fabricante.
- Los empaques deben estar correctamente almacenados en áreas definidas y acondicionadas para evitar la contaminación de los mismos.
- Las operaciones de producción deben realizarse en condiciones sanitarias óptimas, es decir en una planta limpia, lo cual ayudará a mantener la calidad de las materias primas, de la línea de producción y del producto terminado, y además, reducirá el crecimiento potencial de microorganismos que puedan contaminar las entradas y salidas del proceso.
- Se debe prevenir la contaminación cruzada durante las etapas de fabricación, procesamiento, envasado y almacenamiento.
- Se debe elaborar una cartilla de autoevaluación con todos los parámetros anteriormente mencionados para conocer las condiciones de las materias primas e insumos del proceso de producción para posteriormente tomar medidas que solucionen las deficiencias.

En cuanto al abastecimiento del agua: Para que la planta pueda obtener la certificación de BPM brindada por la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA), se debe:

- Cumplir con los requisitos físico-químicos y microbiológicos del agua que se establecen en la normativa NTE INEN 1108:2011,
- El agua utilizada en las operaciones de limpieza y desinfección de equipos debe ser potable.

- En caso de que el agua se obtenga por otras fuentes diferentes a la municipal, esta debe ser potabilizada siguiendo los procedimientos autorizados por la reglamentación nacional a cargo de la Empresa Pública de Agua Potable y Alcantarillado (EMAPAR).
- Las pruebas microbiológicas y físico-químicas se deben realizar de forma semestral, controlando la presencia de alteraciones o variaciones en el agua potable.
- Los análisis microbiológicos y físico-químicos se deben realizar de forma anual por laboratorios acreditados por el INEN.
- El abastecimiento de agua potable para los procesos de producción, limpieza y desinfección debe ser continuo y permanente.
- Los niveles de cloración y pH se deben verificar diariamente mediante procesos normalizados.
- Se debe elaborar una cartilla de autoevaluación con todos los parámetros anteriormente mencionados para conocer las condiciones del abastecimiento de agua potable en la planta de producción para posteriormente tomar medidas que solucionen las deficiencias.

3.4.3. Operaciones de producción

3.4.3.1. Recepción de leche en la planta

- La recepción de la leche en la planta debe ser realizada por personal capacitado y con experiencia.
- No debe tener materiales extraños como pelos, polvo, moscas, residuos de otro tipo, etc.
- No debe tener residuos de medicamentos (antibióticos) ni inhibidores (desinfectantes).
- El análisis sensorial debe verificar el olor y sabor ligeramente dulce de la leche, además de su color ligeramente blanco-amarillento.
- Se debe realizar la prueba bacteriológica de la reductasa para determinar el número de bacterias presentes en la leche. Esta debe ser menor a 4 horas.

- Adicionalmente, se deben llevar a cabo las pruebas físico-químicas de acidez (Acidez titulable valores de 14 a °D), y prueba de alcohol para determinar cuantitativamente la presencia de microbios, de porcentaje de grasa en la leche, y de densidad para conocer si le agregaron agua.
- Debe realizarse pruebas de pH (rango aceptable 6,5 a 6,8) y test para detección de antibióticos.
- Si la acidez de la leche al realizar las pruebas correspondientes es inferior a 12 °D es sospechosa de mastitis.
- Los sólidos totales en su constitución no deben ser menores a 11,4%.
- La grasa de la leche debe estar por encima de 3% mientras que los sólidos no grasos igual o por encima de 8,2%.
- La leche apta debe ser aprobada para recepción, filtrado, almacenamiento y registro.
- En el filtrado se debe usar filtros desechables de celulosa para una correcta separación de la leche.
- Se debe elaborar una cartilla de autoevaluación con todos los parámetros anteriormente mencionados para conocer las condiciones de la leche recibida en la planta de producción para posteriormente tomar medidas que solucionen las deficiencias.

3.5. Pasteurización

- Debe ser enfriada hasta una temperatura de 40 °C.
- Debe ser pasada a tinas queseras de acero inoxidable previamente desinfectadas para no contaminar la leche.
- Se debe elaborar una cartilla de autoevaluación con todos los parámetros anteriormente mencionados para conocer las condiciones de la leche pasteurizada en la planta de producción para posteriormente tomar medidas que solucionen las deficiencias.

3.5.1. Proceso en tina

- La temperatura debe ser controlada a 35 °C para iniciar el trabajo sobre la leche.
- Se debe aplicar un cultivo láctico según la dosis recomendada por el fabricante.
- Se debe añadir cloruro de calcio en dosis de 20 gr / 100 litros de leche con la finalidad de reponer la vitamina que se ha volatilizado durante el proceso de pasteurización.
- Se debe esperar entre 15 a 30 minutos.
- La aplicación del cuajo debe seguir las recomendaciones del fabricante, por lo general se debe procurar una temperatura de 38 °C para añadir un 7 % / 100 litros de leche.
- Para que exista una buena coagulación debe esperar entre 45 minutos a 1 hora.
- Con una lira limpia y desinfectada se debe realizar el corte de la cuajada con movimientos verticales y horizontales para beneficiar la evacuación del suero.
- Los granos de 1,5 cm o tamaño nuez deben ser dejados de lado.
- Se debe realizar una primera agitación por 15 minutos utilizando un agitador limpio, posteriormente se deja reposar por 5 minutos.
- Retire una tercera parte del volumen de suero de la tina.
- El suero no debe ser desechado por el desagüe ya que los efluentes contaminan el medio ambiente.
- Se realiza una segunda agitación, a continuación se deja reposar y finalmente se lava la cuajada con agua a una temperatura de 55 °C.
- Se debe eliminar el suero y filtrar la cuajada, esta debe ser pasada a moldes perforados de plástico o de acero.

- La consistencia se logra después de una espera de 30 minutos, luego se pone los quesos en salmuera.
- Se recomienda según el presente estudio una disolución de cloruro de sodio al 15 % para el parámetro de salinidad del queso fresco.
- La salmuera debería reducir la proliferación de ciertas clases de bacterias como *Salmonella* y *Listeria*, pero existen factores en la manufactura que dificultan esta labor, sin embargo es necesario que se busque disminuir lo máximo el contenido posteriormente se completa el desuerado y contribuye al sabor deseado del queso.
- Los quesos deben ser prensados para que concluyan la eliminación del suero.
- Se debe voltear los quesos cada 30 minutos por 4 veces.
- Se debe elaborar una cartilla de autoevaluación con todos los parámetros anteriormente mencionados para conocer las condiciones del proceso en tina del queso fresco para posteriormente tomar medidas que solucionen las deficiencias.

3.6. Condiciones de envasado, etiquetado y empaquetado

- Los envases, fundas o plásticos de cualquier tipo en los cuales se empaque el queso fresco debe tener las condiciones de inocuidad necesarias para evitar contaminar el producto.
- El etiquetado debe ser con materiales que no afecten la integridad biológica y física del queso.
- En caso de que el empaquetado sea manual, los operadores deben utilizar mascarilla, guantes y malla en todo momento incluso si solo se encuentra cerca del queso sin manipularlo.
- Se debe elaborar una cartilla de autoevaluación con todos los parámetros anteriormente mencionados para conocer las condiciones del proceso de envasado, etiquetado y empaquetado, para posteriormente tomar medidas que solucionen las deficiencias.

3.7. Condiciones de almacenamiento, distribución, transporte y comercialización

- Los quesos frescos deben ser empacados en fundas u otro tipo de recipientes plásticos que garanticen la característica de inocuidad.

- Se recomienda según el presente estudio que la temperatura de refrigeración se encuentre alrededor de 4 °C para obtener la menor tasa de crecimiento para patógenos como la *Listeria monocytogenes* y *Salmonella sp.*
- El transporte del queso fresco debe realizarse en camiones que posean sistemas de refrigeración para mantener la calidad del queso.
- Se debe elaborar una cartilla de autoevaluación con todos los parámetros anteriormente mencionados para conocer las condiciones del proceso de almacenamiento, distribución, transporte y comercialización, para posteriormente tomar medidas que solucionen las deficiencias.

3.7.1. Garantía de calidad

La Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) tiene como objetivo evaluar el cumplimiento de los lineamientos técnico-normativos y requisitos de la normativa NTE INEN 1528:2012 para el otorgamiento del Certificado de Registro Sanitario de Alimentos y Bebidas industrializados, de fabricación nacional o importada, así como generar un sistema único de codificación, sujetos a vigilancia y control sanitario. La Certificación Sanitaria Oficial se otorga por solicitud del interesado, previa conformidad de los requerimientos descritos en el Anexo 1: Guía de requisitos para la inscripción de registro sanitario por producto - Alimentos procesados nacionales, como:

- Declaración que el producto cumple con la norma técnica NTE INEN 1528:2012, Norma general para quesos frescos no madurados. Requisitos.
- Descripción general del proceso de elaboración del producto.
- Diseño de la etiqueta o rótulo del producto según el reglamento técnico ecuatoriano RTE INEN 022, entre otros.
- Declaración del tiempo de vida útil del producto otorgados por laboratorios acreditados por el Servicio de Acreditación Ecuatoriano (SAE) o por el laboratorio de calidad del fabricante siempre que cuente con el certificado de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM).
- Especificaciones físicas y químicas del material del envase.

Una de las principales acciones para garantizar la elaboración de un queso fresco de buena calidad en la línea de producción es el acopio de leche de calidad o “leche fría”, que en términos prácticos se refiere a leche refrigerada con temperaturas de 3 °C a 5 °C, o en el mejor de los casos a la temperatura óptima de 4 °C para evitar el crecimiento de microorganismos patógenos.

La leche que no se encuentra a estas temperaturas y que además no se encuentra en recipientes que garanticen la inocuidad, tiende a calentarse y por ende a tener mayor cantidad de bacterias, por ello es calificada como de menor calidad y se la conoce como “leche caliente”. Debido a esto es esencial que el receptor de leche conozca la terminología calidad de la leche y todas sus derivaciones:

- **Calidad Composicional:** Es el análisis cuantitativo de proteína, lactosa, vitaminas, minerales y grasa que contiene la leche, es decir los sólidos totales. La norma técnica ecuatoriana afirma que la leche debe tener un porcentaje mínimo de 11,30% de sólidos totales (INEN, 2012). Se evalúa en el laboratorio con pruebas químicas o con un analizador automático.
- **Calidad Higiénica:** Es la cantidad de bacterias que se encuentran en la leche, desde el ordeño y hasta la conservación. Estas producen ácido láctico que posteriormente constituyen la acidez de la leche. Esta es analizada en el campo con la prueba del alcohol y en laboratorio con las pruebas de Titulación y Reductasa.
- **Calidad Sanitaria:** Es la cantidad de células somáticas que contiene la leche, estas indican de la presencia de Mastitis Subclínica en las vacas lecheras. Para su determinación se evalúa en campo con la prueba de California Mastitis Test (CMT) y en laboratorio con un Contador de Células Somáticas. Este es el patrón que determina el precio de la leche a nivel mundial.
- **Calidad Organoléptica:** En ella se considera el color, olor y sabor que posee la leche, tanto en el campo como en el laboratorio. Estos análisis sensoriales pueden ser influenciados por los olores de establo que pueden llegar a la leche, la mastitis o presencia de calostro que puede variar el sabor, y el agua que por adulteración puede cambiar el color de la leche al igual que los productos químicos.(FAO, 2011)

CONCLUSIONES

- La temperatura analizada de forma independiente en la investigación no arrojó diferencias significativas presentadas en el tratamiento 1 a temperatura de 12°C mayor proliferación de microorganismos presentando una media de 1296,3 UFC. g-1 de *Listeria monocytogenes*.
- Al analizar los resultados de la influencia de la salinidad en los quesos frescos se obtuvo como mejor porcentaje de salinidad el 15% , en el cual se presenta una media de 259,26 UFC. g-1 de *Listeria monocytogenes*
- La temperatura de conservación combinada con la salinidad influye en el crecimiento de la *Listeria monocytogenes* y *Salmonella sp* como se puede apreciar en los resultados de la investigación realizada, en la cual a menor temperatura y salinidad no afecta el crecimiento de los microorganismos mientras que en el tratamiento 3 a una temperatura de 12°C combinado con una salinidad de 15% se pudo retardar el crecimiento de los microorganismos, esto debido a que el cloruro de sodio en mayor porcentaje contribuyó al control del crecimiento.
- Se determinó la presencia de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella sp* en los quesos de las tres queseras analizadas por causa de la falta de control de calidad por parte de las personas que realizan la producción de queso como de las autoridades a cargo, de esta forma se atenta a la inocuidad alimentaria. .
- Se evaluó el crecimiento de *Listeria* y *Salmonella* en tres tratamientos teniendo como resultado que el tratamiento de combinación Temperatura 4°C y salinidad a 5% en las tres queseras presentó mayor carga microbiana sin embargo la Quesera 1 presentó mayor contaminación microbiana a relación de la Quesera 3, a través de resultados obtenidos se sabe que el tratamiento tres que se refiere a las combinaciones Temperatura 12°C y salinidad a 15% controló el crecimiento, pero no se logró la eliminación total de los microorganismos.
- Se elaboró un protocolo de buenas prácticas de manufactura y procedimientos operativos estandarizados que deberá ser aplicado en las queseras estudiadas para mejorar la inocuidad del proceso de producción de queso fresco

RECOMENDACIONES

- Se recomienda utilizar en la elaboración de queso fresco un 15 % de cloruro de sodio, con la finalidad de evitar la proliferación de microorganismos.
- Se sugiere aplicar un las Buenas Prácticas de Manufactura, en las tres queseras evaluadas para garantizar la inocuidad de sus productos.
- Se aconseja a las tres queseras que realicen más controles en la recepción de la materia prima tomando en cuenta todos los parámetros que se encuentran dentro de las normativas nacionales.

BIBLIOGRAFÍA

ACOSTA, Ángel. *Efecto de dos concentraciones de cloruro de sodio y dos temperaturas en el crecimiento de Listeria monocytogenes en queso fresco pasteurizado.* [En línea] 2015. [Consultado: 22 DE junio del 2019]. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/4527/1/AGI-2015-002.pdf>.

ALIAS, Cesar. *Ciencia de la leche: Principios de técnica lechera.* 4ª. ed. Barcelona, España. Reverté, 1985. pp. 12,45,89.

ALIMENTARIA, FUNDACIÓN VASCA PARA LA SEGURIDAD. *Salmonella.* [En línea] 2013. [Consultado: 28 de 02 de 2013]. Disponible en: http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento82/1.Salmonella.pdf.

ALVARÉZ, Samuel. *Guía de los alimentos. EROSKI CONSUMER, el diario del consumidor.* [En línea] 2009. [Consultado el: 17 de Septiembre de 2019.] Disponible en: <http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/guia-alimentos/leche-y-derivados/2003/02/04/57228.php>.

ARCOSA. Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria. [En línea] 2014. Disponible en: https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/11/ie-d.1.1.-ali-01-a1_requisitos_rs_alimentos_nacionales.pdf.

AURELIO, Reinaldo. *Tecnología de la leche: procesamiento, manufactura y análisis.* 1a. San José, Costa Rica : ICCA., 1982. pp. 43 - 87.

BADUI, Dergal. *La ciencia de los alimentos de la práctica.* Naucalpan, Juárez, México : PEARSON, 2012. pp. 45,67,78.

BIBLIOTECA NACIONAL DE MEDICINA DE LOS EE.UU. Medlineplus. [En línea] 2018. [Consultado el: 12 de Septiembre de 2019]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/salmonellainfections.html>.

CASTAÑEDA, Roberto. *La reología en la tipificación y la caracterización de quesos.* 1a. Buenos Aires, Argentina: Tecnología Láctea Latinoamericana, 2002. pp. 20 (26): 48-53.

CHEFTEL, James.*Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos.* 1a. Zaragoza : España. Acribia, 1980. pp. 45 -78.

CODEX alimentarius. "Código de alimentación" y es la compilación de todas las normas, Códigos de Comportamientos, Directrices y Recomendaciones. [En línea] 2011. [Consultado el: 10 de Agosto de 2019.] Disponible en:
http://www.fao.org/input/download/standards/175/CXS_283s.pdf.

CORTAZAR, Mariza. *Principios de inocuidad de los quesos.* [En línea] 2013.[Consultado el: 23 de Agosto del 2019]. Disponible en:
<http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/5998/T-PUCE-6266.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

CORTÉS, Leonardo.*Manual operativo de análisis microbiológicos para alimentos.* Bogotá, Colombia : Fundacion Luis Carlos Galan, 2001. pp. 34 - 56.

ELIKA. . Fundación Vasca para la Salud Alimentaria. [En línea] 2013. [Consultado el: 29 de Septiembre del 2019]. Disponible en:
http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento82/1.Salmonella.pdf.

ESTACIÓN AGROMETEOROLÓGICA DE LA FACULTAD DE RECURSOS NATURALES. Registros metereolgicos de la Provincia de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. ESPOCH, 2018.

FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. *Manual buenas practicas de manufactura en la elaboracion de productos lácteos.* [En línea] 2011.[Consultado el: 29 de Septiembre del 2019]. Disponible en:
https://coin.fao.org/coin-static/cms/media/2/13346885088330/manual2_lacteos.pdf.

FERNÁNDEZ, Ana. Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo. Producción Higiénica De La Leche Cruda. [En línea] 2010. [Consultado el: Agosto de 09 de 2019.] Disponible en:
http://www.infocarne.com/documentos/composicion_leche_vaca_oveja_cabra_elaboracion_quesos.htm.

FUNDACIÓN VASCA PARA LA SALUD ALIMENTARIAListeria monocytogenes. [En línea] 2006. <http://www.elika.net/datos/riesgos/Archivo21/Listeria.pdf>.

GADM - Morona. La ordenanza que regula la implementación. Organización administrativa y ejecución de la gestión integral de desechos sólidos en el cantón Morona. 2018.

GARCÍA-Islas, Betsabe. *Caracterización fisicoquímica de diversos tipos de quesos elaborados en el Valle de Tulancingo Hgo con el fin de proponer normas de calidad.* Trabajo de titulación Ingeniería Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Tulancingo. Mexico. 2006.pp. 45 -58

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Evaluación de riesgos de *Listeria monocytogenes*. [En línea] 2017. [Consultado el: 29 de Agosto de 2019.]. Disponible en:
<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/Er-listeria-en-lpc.pdf>.

INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN ECUATORIANA INEN, NTE. Norma para regular la calidad del queso fresco . [En línea] 2012. [Consultado el: 19 de Septiembre de 2019.] Disponible en:
<https://archive.org/details/ec.nte.1528.2012>.

JEREZ, José & Rodríguez, Juan. La inocuidad en los alimentos. [En línea] 2012. [Consultado el: 17 de 03 de 2019]. Disponible en:
<http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-y-consumo/2002/08/22/3051.php>.

JIMENES, Silverio. Instituto Nacional del Higiene y Seguridad del trabajo. [En línea] 15 de 06 de 2016. [Consultado el: 12 de Abril de 2019.]. Disponible en:
<http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Listeria%20monocytogenes%202017.pdf>.

LICATA, Marcela. La producción de quesos . [En línea] 2011. [Consultado el: 12 de Septiembre de 2019.] Disponible en:
<http://www.zonadiet.com/comida/queso.htm>.

LOPÉZ, José & PÉREZ, Josué. *Fitoquímica y valor ecológico del olor a ajo en los vegetales.* Madrid. España. Medicina Naturista, 2010.pp. 15 -18.

LUQUET, Francisco. *Los productos lácteos: Transformación y tecnologías.* 1a. Zaragoza, España. ACRIBIA., 1993.pp. 22 -34.

MADRID, Vicente. *Manual de industrias lácteas.* Madrid, España : ACRIBIA, 2003. pp. 56 - 89.

SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA. HOSPITAL DE MÓSTOLES. Control de Calidad SIEMIC. [En línea] 2016 [Consultado el:03 de 2019]. Disponible en:
<https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/listeria.pdf>.

MAJEM, Aranceta Bartrina & Serra. *Leche, lácteos y salud.* 1a. Madrid, España : Médica Panamericana., 2005. pp. 65-68.

MARTÍNEZ, Anderson. *Vida útil para Listeria monocytogenes en determinados productos alimenticios.* Revista Argentina de Microbiología Elsevier. [En línea] 2011. Argentina. volumen 2. pp. 2 -3. Disponible en:
http://aesan.msssi.gob.es/AESAN/docs/docs/evaluacion_riesgos/comite_cientifico/LISTE.

MARZOCCA, Merriza *Detección de Listeria monocytogenes en distintos productos alimenticios y en muestras de ambientes de una amplia cadena de supermercados de la ciudad de Bahía Blanca, Argentina.* [En línea] 2004. [Consultado el:23 de Noviembre del 2019]Disponible en:
<https://www.elsevier.es/es-revista-revista-argentina-microbiologia-372>.

MINISTERIO DEL AMBIENTE - Aduerdo No. 061. Acuerdo No. 061 - Reforma del libro VI del texto unificado de legislación secundaria. Quito : s.n., 2015.

MULLER, Hermuy. *Introducción a la reología de los alimentos* 1a. Zaragoza , España: Acribia, 1977. pp. 174 - 177.

NEGRI, Linarti. *EL pH y acidez. En Manual de referencias técnicas para logro de la calidad de la leche .* 1a. Buenos Aires, Argentina : INTA. 2005. pp. 155-160.

OCIEL RAMÍREZ, Hazael. *Sistema de Gestión Integral de Residuos sólidos.* Quito, Ecuador. RIPALE. 2015. pp. 55- 60.

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA. 2019. Portal lácteo. [En línea] 2019. [Consultado el:Julio de 21 de 2019.] Disponible en:
<http://www.fao.org/dairy-production-products/products/composicion-de-la-leche/es/>.

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD. Salmonella. [En línea] 2018. [Consultado el: 23 de Septiembre de 2019.] Disponible en:

[https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)).

ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD. Peligros biológicos. [En línea] 2015. [Consultado el: 23 de Noviembre del 2019]

https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838:2015-peligros-biologicos&Itemid=41432&lang=es.

PIKE, Rockville. Biblioteca Nacional de Medicina de los EE. UU. [En línea] 2017. [Consultado el: 05 de 2018]. Disponible en:

<https://medlineplus.gov/spanish/listeriainfections.html>.

PINEDO, Mano. *Sistemas de producción de plantas promisorias con principios activos en la selva baja del Perú.* Lima, Perú : Programa del Camu 1999. pp. 35-47.

PLAZA, Luis. *Análisis Microbiológico en Quesos Frescos que se Expenden en MachachiL* . Trabajo de titulación para Ingeniero en Ciencias de la Producción. Escuela Superior Politécnica del Litoral Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción. Guayaquil , Ecuador. 2013. pp. 23, 45,67

PRESCAL, Reinaldo. 2014. Manipulación e alimento manual común . [En línea] 2014. [Consultado el: 12 de Agosto de 2019.]. Disponible en:

http://www.juntadeandalucia.es/empleo/recursos2/material_didactico/especialidades/materialdidactico_manipulacion_alimentos/PDF/Manual_Comun.pdf.

PEREZ, Samuel *Proliferación bacteriana en quesos frescos* Unidad Editorial Revistas, Vol. II, 2012 Buenos Aires, Argentina. pp. 2-3.

RAINTREE, Hemerson. Tropical plant base, ajos sacha (*Mansoa alliacea*). [En línea] 2006. [Consultado el: 25 de Noviembre del 2019]. Disponible en:

<http://www.rain-tree.com/mansoa.htm#.W1ixn5O23IU>.

RAMOS, José. Recuento de *Staphylococcus aureus* y detección de enterotoxinas estafilocócicas en. [En línea] 23 de 02 de 2012. [Consultado el: 22 de Abril de 2019.] Disponible en: <http://www.scielo.org/ve/pdf/rsvm/v32n2/art07.pdf>.

SILVA, Hermann. *Plantas medicinales de la amazonia peruana*. Lima, Perú : Instituto peruano de seguridad social, Instituto de medicina tradicional, 2008.pp. 32-45.

SPADA, Emiliano. Características del queso fresco . [En línea] 12 de 2009. [Consultado el: Agosto de 29 de 2019.] Disponible en:

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

ANEXOS

ANEXO A. EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* EN QUESOS FRESCOS BAJO LA INFLUENCIA DE DIFERENTES TEMPERATURA Y SALINIDAD, EN DIFERENTES QUESERÍAS DEL CANTÓN RIOBAMBA .

BASE DE DATOS

Variedad	Temperatura	Salinidad	REPETICIÓN		
			I	II	III
1	4 °C	5 %	0	1000	0
1	4 °C	10 %	1000	0	0
1	4 °C	15 %	0	0	0
1	8 °C	5 %	2000	0	0
1	8 °C	10 %	0	0	0
1	8 °C	15 %	0	0	0
1	12 °C	5 %	2000	1000	2000
1	12 °C	10 %	1000	0	0
1	12 °C	15 %	0	0	0
2	4 °C	5 %	1000	0	0
2	4 °C	10 %	1000	0	2000
2	4 °C	15 %	0	0	1000
2	8 °C	5 %	0	1000	1000
2	8 °C	10 %	0	0	1000
2	8 °C	15 %	1000	0	0
2	12 °C	5 %	1000	3000	1000
2	12 °C	10 %	1000	0	0
2	12 °C	15 %	0	0	0
3	4 °C	5 %	7000	200	200
3	4 °C	10 %	0	1000	3000
3	4 °C	15 %	1000	1000	0
3	8 °C	5 %	3000	3000	1000
3	8 °C	10 %	3000	2000	1000
3	8 °C	15 %	1000	1000	1000
3	12 °C	5 %	8000	7000	5000
3	12 °C	10 %	2000	1000	0
3	12 °C	15 %	0	0	0

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Fisher calculado	Fisher 0,05	Fisher 001	Prob	Sign
Total	205120000	80	2564000					
Factor A	39771851,85	2	19885925,93	17,46	3,168	5,021	1,41E-06	**
Factor B	4749629,63	2	2374814,815	2,09	3,168	5,021	0,134	ns
Factor C	36749629,63	2	18374814,81	16,14	3,168	5,021	3,21E-06	**
Inter A*B	2136296,296	4	534074,0741	0,47	2,543	3,688	0,76	ns
Int A*C	20447407,41	4	5111851,852	4,49	2,543	3,688	0,003	**
Int B*C	25914074,07	4	6478518,519	5,69	2,543	3,688	0,0007	**
Int A*B*C	13857777,78	8	1732222,222	1,52	2,115	2,860	0,1717	ns
Error	61493333,33	54	1138765,432					
CV	111,68							

Separación de medias de acuerdo a Tukey por efecto del lugar de procedencia

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=699,94578 Error: 1138765,4321 gl: 54

Lugar	Medias	n	E.E.	Rango
Quesera 1	370,37	27	205,37	a
Quesera 2	555,56	27	205,37	a
Quesera 3	1940,74	27	205,37	b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Separación de medias de acuerdo a Tukey por efecto de la temperatura

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=699,94578 Error: 1138765,4321 gl: 54

Temperatura	Medias	n	E.E.	Rango
4 °C	755,56	27	205,37	A
8 °C	814,81	27	205,37	A
12 °C	1296,3	27	205,37	A

Separación de medias de acuerdo a Tukey por efecto de la salinidad

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=699,94578 Error: 1138765,4321 gl: 54

Salinidad	Medias	n	E.E.	
5 %	1866,67	27	205,37	b
10 %	740,74	27	205,37	a
15 %	259,26	27	205,37	a

Separación de medias de acuerdo a Tukey por efecto de la interacción entre el lugar de procedencia y la temperatura

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1625,22696 Error: 1138765,4321 gl: 54

Lugar	Temperatura	Medias	n	E.E.	
Quesera 1	8 °C	222,22	9	355,71	a
Quesera 1	4 °C	222,22	9	355,71	a
Quesera 1	12 °C	666,67	9	355,71	a
Quesera 2	8 °C	444,44	9	355,71	a
Quesera 2	4 °C	555,56	9	355,71	a
Quesera 2	12 °C	666,67	9	355,71	a
Quesera 3	4 °C	1488,89	9	355,71	a
Quesera 3	8 °C	1777,78	9	355,71	a
Quesera 3	12 °C	2555,56	9	355,71	a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0,05$)

Separación de medias de acuerdo a Tukey por efecto de la interacción entre el lugar de procedencia y la salinidad

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1625,22696 Error: 1138765,4321 gl: 54

Lugar	Salinidad	Medias	n	E.E.	
Quesera 1	15 %	0	9	355,71	a
Quesera 2	15 %	222,22	9	355,71	a
Quesera 1	10 %	222,22	9	355,71	a
Quesera 2	10 %	555,56	9	355,71	a
Quesera 3	15 %	555,56	9	355,71	a
Quesera 2	5 %	888,89	9	355,71	a
Quesera 1	5 %	888,89	9	355,71	a
Quesera 3	10 %	1444,44	9	355,71	a
Quesera 3	5 %	3822,22	9	355,71	b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0,05$)

Separación de medias de acuerdo a Tukey por efecto de la interacción entre la temperatura por la salinidad

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1625,22696

Temperatura	Salinidad	Medias	n	E.E.	
12 °C	15 %	0	9	355,71	A
4 °C	15%	333,33	9	355,71	A
8 °C	15%	444,44	9	355,71	A
12 °C	10%	555,56	9	355,71	A
8 °C	10%	777,78	9	355,71	A
4 °C	10%	888,89	9	355,71	A
4 °C	5 %	1044,44	9	355,71	A
8 °C	5%	1222,22	9	355,71	A
12 °C	5%	3333,33	9	355,71	B

Separación de medias de acuerdo a Tukey por efecto de la interacción entre la el lugar de procedencia por la temperatura y la salinidad

Lugar	Temperatura	Salinidad	Medias	n	E.E.	
Quesera 2	12 °C	15%	0	3	616,11	A
Quesera 1	4 °C	15%	0	3	616,11	A
Quesera 1	8 °C	15%	0	3	616,11	A
Quesera 1	8 °C	10%	0	3	616,11	A
Quesera 1	12 °C	15%	0,000000000001	3	616,11	A
Quesera 3	12 °C	15%	0,000000000001	3	616,11	A
Quesera 2	8°C	10%	333,33	3	616,11	A
Quesera 2	8 °C	15%	333,33	3	616,11	A
Quesera 2	12 °C	10%	333,33	3	616,11	A
Quesera 1	4 °C	5%	333,33	3	616,11	A
Quesera 1	4°C	10%	333,33	3	616,11	A
Quesera 2	4 °C	5%	333,33	3	616,11	A
Quesera 2	4 °C	15%	333,33	3	616,11	A
Quesera 1	12 °C	10%	333,33	3	616,11	A
Quesera 2	8 °C	5%	666,67	3	616,11	A
Quesera 1	8 °C	5%	666,67	3	616,11	A
Quesera 3	4 °C	15%	666,67	3	616,11	A
Quesera 3	8 °C	15%	1000	3	616,11	A

Quesera 2	4 °C	10%	1000	3	616,11 A
Quesera 3	12 °C	10%	1000	3	616,11 A
Quesera 3	4 °C	10%	1333,33	3	616,11 A
Quesera 2	12 °C	5%	1666,67	3	616,11 A
Quesera 1	12 °C	5%	1666,67	3	616,11 A
Quesera 3	8 °C	10%	2000	3	616,11 A
Quesera 3	8 °C	5%	2333,33	3	616,11 A
Quesera 3	4 °C	5%	2466,67	3	616,11 A
Quesera 3	12 °C	5%	6666,67	3	616,11 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0,05$)

ANEXO B. EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE SALMONELLA SP, EN QUESOS FRESCOS BAJO LA INFLUENCIA DE DIFERENTES TEMPERATURA Y SALINIDAD, EN DIFERENTES QUESERÍAS DEL CANTÓN RIOBAMBA.

BASE DE DATOS

Variedad	Temperatura	Salinidad	REPETICIÓN		
			I	II	III
1	4 °C	5 %	40000	50000	31000
1	4 °C	10 %	42000	15000	460000
1	4 °C	15 %	6750000	612000	780000
1	8 °C	5 %	45000	56000	37000
1	8 °C	10 %	48000	18000	480000
1	8 °C	15 %	6850000	632000	800000
1	12 °C	5 %	50000	59000	41000
1	12 °C	10 %	48000	18000	480000
1	12 °C	15 %	6850000	632000	800000
2	4 °C	5 %	38000	45000	20000
2	4 °C	10 %	10000	430000	28000
2	4 °C	15 %	6000000	580000	740000
2	8 °C	5 %	108000	97000	116000
2	8 °C	10 %	97000	15000	217000
2	8 °C	15 %	286000	408000	615000
2	12 °C	5 %	110000	99000	119000
2	12 °C	10 %	95000	15000	219000
2	12 °C	15 %	288000	410000	617000
3	4 °C	5 %	30000	40000	18000
3	4 °C	10 %	37000	7000	390000
3	4 °C	15 %	5850000	612000	780000
3	8 °C	5 %	30000	32000	22000
3	8 °C	10 %	10000	1000	4000
3	8 °C	15 %	24000	58000	8000
3	12 °C	5 %	32000	34000	20000
3	12 °C	10 %	11000	1000	6000
3	12 °C	15 %	26000	60000	10000

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Fisher calculado	Fisher 0,05	Fisher 001	Prob	Sign
Total	190136600172839,	80	2376707502160,49					
Factor A	7165595135802,47	2	3582797567901,24	1,73	3,168	5,021	0,188	ns
Factor B	4369648913580,25	2	2184824456790,12	1,05	3,168	5,021	0,356	ns
Factor C	39107120320987,7	2	19553560160493,8	9,42	3,168	5,021	0,003	**
Inter								
A*B	2478208123456,79	4	619552030864,20	0,30	2,543	3,688	0,878	ns
Int A*C	12283753160493,8	4	3070938290123,45	1,48	2,543	3,688	0,221	ns
Int B*C	8206596493827,16	4	2051649123456,79	0,99	2,543	3,688	0,422	ns
Int								
A*B*C	4382911358024,71	8	547863919753,09	0,26	2,115	2,860	0,975	ns
Error	112142766666667,	54	2076717901234,57					

Separación de medias de acuerdo a Tukey por efecto del lugar de procedencia

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=945226,77172 Error: 2076717901234,5693 gl: 54			
Lugar	Medias	n	E.E.
Quesera 3	301962,96	27	277336,4 a
Quesera 2	437851,85	27	277336,4 a
Quesera 1	989777,78	27	277336,4 a

Separación de medias de acuerdo a Tukey por efecto de la temperatura

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=945226,77172 Error: 2076717901234,5693 gl: 54			
Temperatura	Medias	n	E.E.
8 °C	411629,63	27	277336,4 a
12 °C	412962,96	27	277336,4 a
4 °C	905000	27	277336,4 a

Separación de medias de acuerdo a Tukey por efecto de la salinidad

Salinidad %	Medias	n	E.E.	
5 %	52555,56	27	277336,4	a
10 %	118592,59	27	277336,4	a
15 %	1558444,44	27	277336,4	b

Separación de medias de acuerdo a Tukey por efecto de la interacción entre el lugar de procedencia y la temperatura

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2194752,90936 Error: 2076717901234.5693 gl: 54

Lugar	Temperatura	Medias	n	E.E.	
Quesera 3	8 °C	21000	9	480360,73	a
Quesera 3	12 °C	22222,22	9	480360,73	a
Quesera 2	8 °C	217666,67	9	480360,73	a
Quesera 2	12 °C	219111,11	9	480360,73	a
Quesera 3	4 °C	862666,67	9	480360,73	a
Quesera 2	4 °C	876777,78	9	480360,73	a
Quesera 1	4 °C	975555,56	9	480360,73	a
Quesera 1	8 °C	996222,22	9	480360,73	a
Quesera 1	12 °C	997555,56	9	480360,73	a

Separación de medias por de acuerdo a Tukey por efecto de la interacción entre el lugar de procedencia y la salinidad

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2194752,90936 Error: 2076717901234.5693 gl: 54

Lugar	Salinidad %	Medias	n	E.E.	
Quesera 3	5	28666,67	9	480360,73	a
Quesera 1	5	45444,44	9	480360,73	a
Quesera 3	10	51888,89	9	480360,73	a
Quesera 2	5	83555,56	9	480360,73	a
Quesera 2	10	125111,11	9	480360,73	a
Quesera 1	10	178777,78	9	480360,73	a
Quesera 3	15	825333,33	9	480360,73	ab
Quesera 2	15	1104888,89	9	480360,73	ab
Quesera 1	15	2745111,11	9	480360,73	b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0,05$)

Separación de medias de acuerdo a Tukey por efecto de la interacción entre la temperatura y la salinidad

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2194752,91 Error: 2076717901234.5693 gl: 54

Temperatura	Salinidad	Medias	n	E.E.	
4 °C	5 %	34666,67	9	480360,73	a
8 °C	5 %	60333,33	9	480360,73	a
12 °C	5 %	62666,67	9	480360,73	a
8 °C	10 %	98888,89	9	480360,73	a
12 °C	10 %	99222,22	9	480360,73	a
4 °C	10 %	157666,67	9	480360,73	a
8 °C	15 %	1075666,67	9	480360,73	a
12 °C	15 %	1077000	9	480360,73	a
4 °C	15 %	2522666,67	9	480360,73	a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0,05$)

Separación de medias de acuerdo a Tukey por efecto de la interacción entre la temperatura y a salinidad

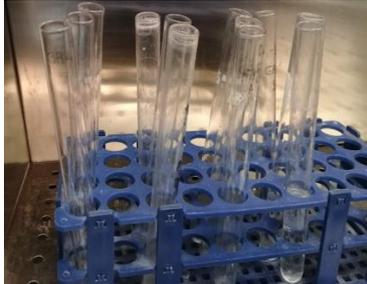
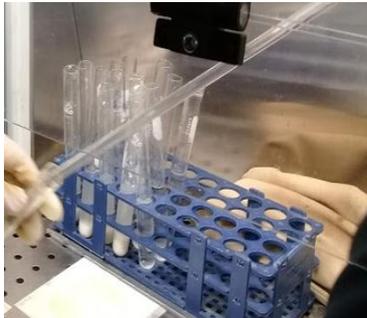
Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4585834.56148 Error: 2076717901234.5693 gl: 54

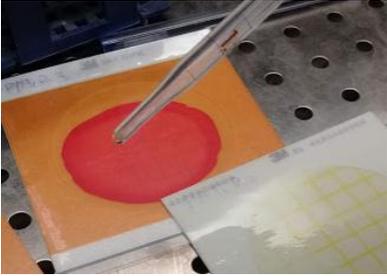
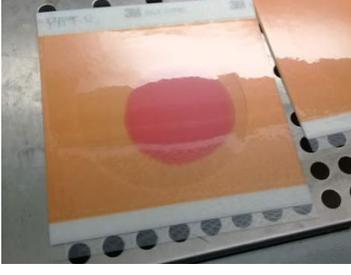
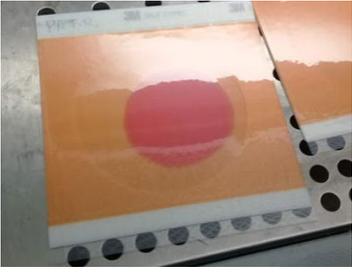
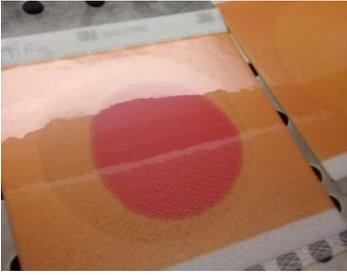
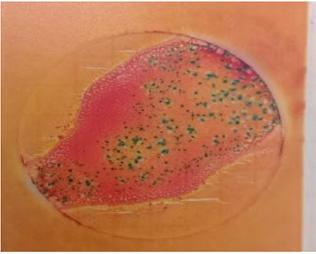
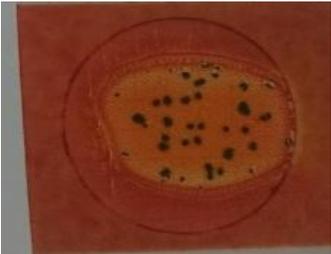
Lugar	Temperatura	Salinidad %	Medias	n	E.E.	
Quesera 3	8 °C	10 %	5000	3	832009,19	a
Quesera 3	12 °C	10 %	6000	3	832009,19	a
Quesera 3	8 °C	5 %	28000	3	832009,19	a
Quesera 3	12 °C	5 %	28666,67	3	832009,19	a
Quesera 3	4 °C	5 %	29333,33	3	832009,19	a
Quesera 3	8 °C	15 %	30000	3	832009,19	a
Quesera 3	12 °C	15 %	32000	3	832009,19	a
Quesera 2	4 °C	5 %	34333,33	3	832009,19	a
Quesera 1	4 °C	5 %	40333,33	3	832009,19	a
Quesera 1	8 °C	5 %	46000	3	832009,19	a
Quesera 1	12 °C	5 %	50000	3	832009,19	a
Quesera 2	8 °C	5 %	107000	3	832009,19	a
Quesera 2	12 °C	5 %	109333,33	3	832009,19	a
Quesera 2	12 °C	10 %	109666,67	3	832009,19	a
Quesera 2	8 °C	10 %	109666,67	3	832009,19	a
Quesera 3	4 °C	10 %	144666,67	3	832009,19	a
Quesera 2	4 °C	10	156000	3	832009,19	a

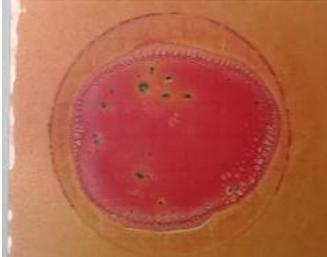
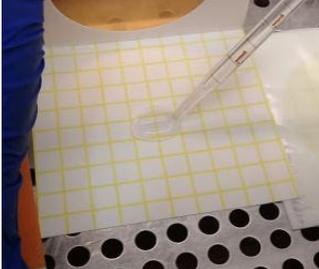
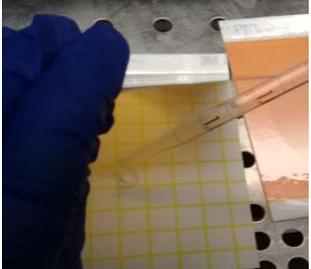
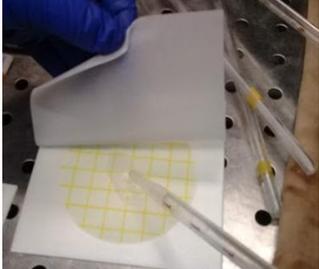
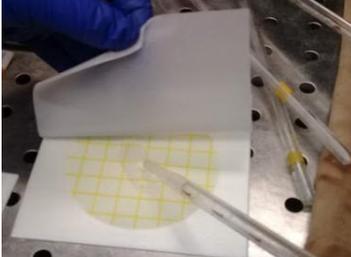
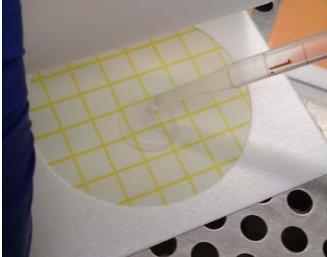
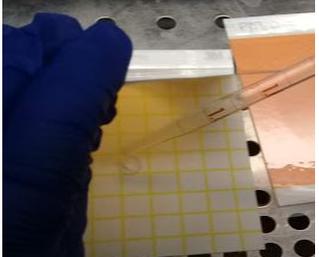
Quesera 1	4 °C	10 %	172333,33	3	832009,19	a
Quesera 1	8 °C	10	182000	3	832009,19	a
Quesera 1	12 °C	10 %	182000	3	832009,19	a
Quesera 2	8 °C	15 %	436333,33	3	832009,19	a
Quesera 2	12 °C	15 %	438333,33	3	832009,19	a
Quesera 3	4 °C	15 %	2414000	3	832009,19	a
Quesera 2	4 °C	15 %	2440000	3	832009,19	a
Quesera 1	4 °C	15 %	2714000	3	832009,19	a
Quesera 1	12 °C	15 %	2760666,67	3	832009,19	a
Quesera 1	8 °C	15 %	2760666,67	3	832009,19	A

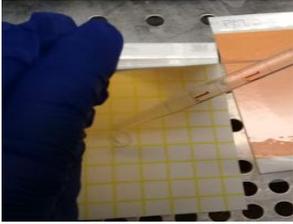
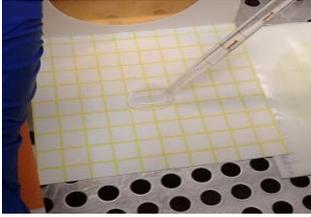
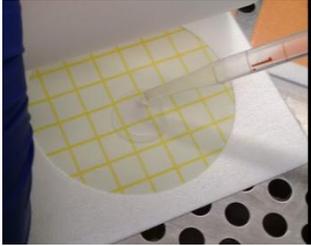
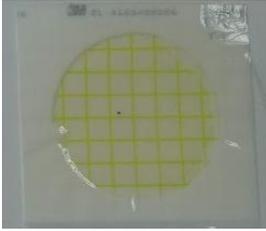
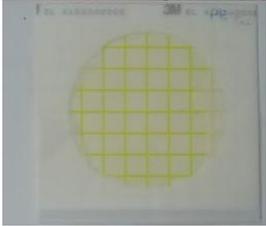
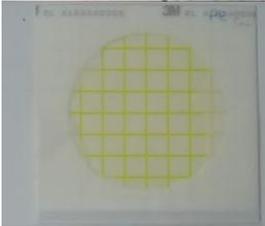
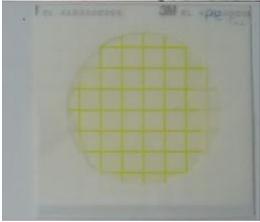
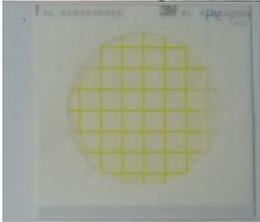
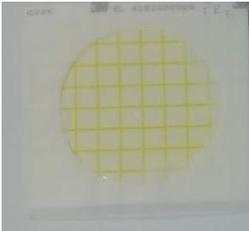
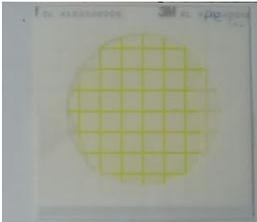
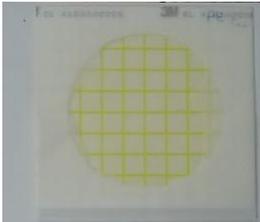
Medias con una letra común no son significativamente diferentes($p \leq 0,05$)

**ANEXO C. PROCESO DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO EN EL TRATAMIENTO # 1
CONSERVADO A 4°C**

Quesera # 1		
Salinidad 5%	Salinidad 10%	Salinidad 15%
		
este proceso se lo realizo tres para cada repetición con el fin de disminuir el porcentaje de erro experimental		
Esterilización de los materiales	Esterilización de los mateiales	Esterilizacion de los materiales
		
Disolución	Disolución	Disolución
		
Las muestras en el tratamiento #1 se realizó a una disolución de 1×10^{-3} de igual manera esto se realizó en las tres repeticiones		

Cultivo de muestras (<i>Salmonella</i>)	Cultivo de muestras (<i>Salmonella</i>)	Cultivo de muestras (<i>Salmonella</i>)
Repetición #1 	Repeticion #1 	Repetición#1 
Repetición # 2 	Repeticion # 2 	Repetición #2 
Repetición #3 	Repeticion #3 	Repetición #3 
Resultados	Resultados	Resultados
Repetición #1 	Repeticion #1 	Repetición#1 

<p>Repetición # 2</p> 	<p>Repeticion # 2</p> 	<p>Repetición #2</p> 
<p>Repetición #3</p> 	<p>Repeticion #3</p> 	<p>Repetición# 3</p> 
<p>Cultivo de muestras (<i>Listeria</i>)</p>		
<p>Repetición #1</p> 	<p>Repeticion #1</p> 	<p>Repetición#1</p> 
<p>Repetición # 2</p> 	<p>Repeticion # 2</p> 	<p>Repetición #2</p> 

<p>Repetición # 3</p> 	<p>Repetición # 3</p> 	<p>Repetición #3</p> 
<p>Resultados</p>	<p>Resultados</p>	<p>Resultados</p>
<p>Repetición #1</p> 	<p>Repetición #1</p> 	<p>Repetición#1</p> 
<p>Repetición # 2</p> 	<p>Repetición # 2</p> 	<p>Repetición #2</p> 
<p>Repetición # 3</p> 	<p>Repetición # 3</p> 	<p>Repetición #3</p> 

ANEXO D. CHECK LIST DEL PROTOCOLO DE BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA

PROTOCOLO DE BUENAS PRACTICAS DE MANUFACTURA LISTA DE CHEQUEO	FECHA:
---------------------------------------------------------------------	--------

Identificación del establecimiento.

Razón social.

representante legal.

Responsable a cargo de la visita

Objetivo de la visita

Numeral	Aspectos para analizar	Cumple	No cumple	Observaciones
1	Instalaciones			
1.1	La planta se encuentra ubicada fuera del alcance de focos de contaminación.			
1.2	La planta se encuentra construida en un lugar estable, sin peligros de deslizamientos o lugares que antes hayan sido rellenados.			
1.3	Las instalaciones externas de la planta se encuentran libres de maleza y pastizales.			
1.4	En caso de existir más líneas de producción, estas se encuentran debidamente separadas			
1.5	La planta cuenta con los permisos, municipales y de ministerio de medioambiente.			
1.6	Cuenta con señalización interna.			
2	Diseño e instalaciones.			
2.1	Existe una debida distribución de los equipos.			
2.2	La planta cuenta con un plano en el que se define claramente cada área de la planta			

2.3	Cuenta con vestidores y casilleros para el personal.			
2.4	Los equipos y materiales se encuentran elaborados en material de acero inoxidable.			
2.5	Se cuenta con aislamiento térmico en áreas donde existan riesgos físicos por variación de temperaturas y extractores de gases			
2.6	Las instalaciones facilitan la limpieza adecuada en toda la planta.			
2.7	Se realizan revisiones técnicas cada dos años.			
2.8	La planta cuenta con un diagrama de las líneas producción			
2.9	Pisos, paredes, techos y puertas.			
2.10	No presenta huecos o grietas en la planta.			
2.11	Las superficies están construidas en material lisas y antideslizantes.			
2.12	Los pisos y techos presentan desagües para evitar la acumulación de agua.			
3	Iluminación			
3.1	Cuenta con iluminación en toda la planta que no afecte al color natural de la materia prima.			
3.2	El cableado se encuentra recubierto con cintas o tubos aislantes			
3.3	Las instalaciones eléctricas cuentan con sus respectivas cajas de llaves térmicas.			
4	Equipos y utensilios			
4.1	Los equipos y materiales están contruidos en materias que evita la acumulación de suciedad.			

4.2	Los materiales resisten continuas operaciones de limpieza y desinfección			
4.3	Los equipos cuentan con sus respectivos protocolos de limpieza.			
4.4	Las calibraciones de los equipos la realizan el personal autorizado.			
5	Requisitos higiénicos de fabricación			
5.1	Cuenta el personal de buena salud			
5.2	El personal notifica al jefe cuando se encuentran enfermos.			
5.3	No se consume alimentos en las líneas de proceso.			
5.4	el personal usa la indumentaria adecuada para estar dentro de las areas del proceso.			
5.5	El personal acata las restricciones como, no usar maquillaje y no ingresar con objetos ajeno al proceso			
5.6	El personal recibe capacitaciones periódicas sobre inocuidad y calidad, ETTA			
5.7	El personal tienes acceso a POES Y BPM			
5.8	L a planta cuenta con un plan de capacitación sobre higiene para los trabajadores sobre todo para los que se encuentran en contacto directo en la línea de producción.			
6	Materias primas			
6.1	La planta realiza análisis antes de adquirir la materia prima			
6.2	Se desinfecta los utensilios que se utiliza en la materia prima			
6.3	Se almacena la materia prima según las especificaciones del distribuidor.			

6.4	Se previene la contaminación cruzada durante la fabricación procesamiento envasado hay almacenamiento.			
6.5	El agua cuenta con certificación BPM.			
6.6	Se realiza análisis semestrales del agua que se utiliza en la planta			
	Operaciones de producción			
7	Recepción de la leche en la planta.			
7.1	la recepción de la leche la realiza el personal autorizado.			
7.2	Se realiza el análisis sensorial a la leche.			
7.3	Se realiza la prueba de densidad y acides de la leche y PH			
8	Pasteurización			
8.1	Se controla de forma adecuada las temperaturas en la pasteurización			
9	Proceso en tina.			
9.1	Se siguen las recomendaciones del fabricante cuando se utiliza el cuajo			
9.2	Se verifica que las tinas estén limpias antes de usarlas			
9.3	Se realiza el proceso en la tina tomando en cuenta los principios de higiene.			
10	Condiciones de envasado, etiquetado y empaquetado.			
10.1	Las fundas cuentan con las condiciones necesarias para evitar que el queso se contamine.			
10.1	El personal usa su indumentaria en el empaque del producto final.			