



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

EVALUACIÓN DE VIDA ÚTIL EN QUESOS PRODUCIDOS EN CAYAMBE

AUTORA

María Belén Jaramillo Ampuero

AÑO

2020



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

EVALUACIÓN DE VIDA ÚTIL EN QUESOS PRODUCIDOS EN CAYAMBE

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos  
establecidos para optar por el título de Ingeniera Agroindustrial y de Alimentos

Profesor Guía

M. Sc José Ignacio Ortín Hernández

Autora

María Belén Jaramillo Ampuero

Año

2020

## DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

"Declaro haber dirigido el trabajo, Evaluación de la vida útil de queso producido en Cayambe, a través de reuniones periódicas con la estudiante María Belén Jaramillo Ampuero, en el semestre 202010 orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de "



---

José Ignacio Ortín Hernández  
Master en Gestión de Seguridad Alimentaria  
CI: 1754826517

## DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

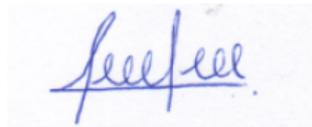
"Declaro haber revisado este trabajo, evaluación de vida útil de queso producido en Cayambe del María Belén Jaramillo Ampuero, en el semestre 202010, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".



María Raquel Meléndez Jácome  
Master en Protección y Fitofarmacia  
CI: 1709384067

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'M. Belén Jaramillo Ampuero', is centered on the page. The signature is written in a cursive style with a horizontal line underlining the name.

---

María Belén Jaramillo Ampuero

CI: 1723351118

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a mi familia por siempre ayudarme y apoyarme en todo. A mis padres por todo el amor y apoyo incondicional, a mis hermanos por siempre estar conmigo y hacerme reír. Agradezco a mi tutor por guiarme en todo el proceso, aportando los conocimientos necesarios para mi formación profesional.

## **DEDICATORIA**

A mis padres, Octavio y Lupe por apoyarme en cada etapa de mi vida.  
A mi abuelita Fanny que siempre estuvo en mi vida para cuidarme y apoyarme.

## RESUMEN

La vida útil de un alimento se define como el tiempo que posee el producto desde que termina su producción hasta que pierde sus características de calidad (microbiológicas, sensoriales, fisicoquímicas), en condiciones controladas. Cuando se elaboran productos alimenticios existen técnicas que aseguran la inocuidad de los alimentos; una de ellas son las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM). Las BPM son un compendio de regularizaciones básicas que aseguran al producto desde la materia prima, producción, almacenamiento y distribución. En este trabajo se estudió la vida útil de queso mozzarella producido en Cayambe, en empresas que poseen y no poseen Buenas Prácticas de Manufactura. Se realizó un estudio microbiológico de dos microorganismos que son requeridos en la norma NTE INEN 82:2011, la misma que regulariza la producción de queso mozzarella. Estos microorganismos son las *Enterobacteriaceae* y *Salmonella*, el primero como indicador de higiene y el segundo como indicador de Inocuidad. El estudio se realizó durante un mes desde su producción, el cual se dividió en tres fechas denominadas día 1, día 15 y día 30. No se encontró *Salmonella* en ninguno de los días muestreados. El recuento de *Enterobacterias* para las empresas oscila en valores de: 1,39 (UFC)/g a 4,60 (UFC)/g, en el día 1. Para el día 15 fueron de: 2,68 (UFC)/g a 6,54 (UFC)/g. Para el día 30 fueron de: 4,98 (UFC)/g a 7,18 (UFC)/g. Las cualidades organolépticas se mantuvieron similares a lo largo del estudio. Para el olor los valores fueron de: 6,9 a 2,4. Para la textura los valores fueron de: 6,65 a 2,1. Para el sabor los valores fueron de: 6,7 a 2,3. Para el color los valores fueron de: 6,72 a 1,92 durante el estudio. El pH obtuvo valores de 5,7 a 6,2, en el día 1. Para el día 15 fueron de: 5,7 a 6,2. Para el día 30 fueron de: 5,6 a 5,8. Las principales causas a las que se deben estos valores, son la omisión de las Buenas Prácticas de Manufactura. Los principales puntos de omisión de estas prácticas, son las que se refieren a los operarios, y controles de pasteurización y refrigeración. Como conclusión, la empresa A001, fue la que obtuvo un recuento más bajo de microorganismos, con vida útil de 15 días. La empresa A002 y A004, obtuvieron recuentos similares, con vida útil menor a 15 días. La empresa A003, presentó los recuentos más altos, sin vida útil ya presenta un

recuento mayor a 1000 (UFC)/g, desde su producción. Las cualidades organolépticas de todas las empresas, fueron del agrado de los consumidores en todo el estudio. Sin embargo, no se realizó un análisis organoléptico en el día 30 de la empresa A003, por su recuento de microorganismos. Los quesos que poseían un pH más ácido estuvieron menos propensos al ataque de microorganismos.

**Palabras claves:** vida útil, queso mozzarella, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella*. Buenas Prácticas de Manufactura, higiene, inocuidad.

## ABSTRACT

The shelf life of alimentary products is defined as the time the product has from the end of its production until it loses its quality characteristics (microbiological, sensory, physicochemical), under controlled conditions. When food products are produced, there are techniques that ensure food safety in the medium- and long-term characteristics; one of them is the Good Manufacturing Practices (BPM). BPM is a compendium of basic regularizations that ensure the product from its beginning of raw material, production, storage and distribution. This the thesis studied the shelf life of mozzarella cheese produced in Cayambe, in companies that contain and do not contain Good Manufacturing Practices. A microbiological study of two microorganisms that are required in the NTE INEN 82: 2011 standard was carried out, which regulates the production of mozzarella cheese. These microorganisms are Enterobacteriaceae and Salmonella, the first as an indicator of hygiene and the second as an indicator of safety. The study was carried out for a month since its production, which was divided into three dates called day 1, day 15 and day 30. Salmonella was not found on any of the sampled days. The Enterobacteria count for companies ranges in values of: 1.39 (CFU) /g to 4.60 (CFU) /g, on day 1. For day 15 they were: 2.68 (CFU) / g to 6, 54 (CFU) /g. For day 30 they were: 4.98 (CFU) /g to 7.18 (CFU) /g. The organoleptic qualities remained similar throughout the study. For the smell the values were: 6.9 to 2.4. For texture the values were: 6.65 to 2.1. For flavor, the values were: 6.7 to 2.3. For color the values were: 6.72 to 1.92. throughout the study. The pH obtained values of 5.7 to 6.2, on day 1. For day 15 they were: 5.7 to 6.2. For day 30 they were: 5.6 to 5.8. The main causes to which these values are due, are the omission of the Good Manufacturing Practices. The main points of omission of these practices are those specified for the operators, and the pasteurization and refrigeration controls. In conclusion the company A001, was the one that obtained a lower count of microorganisms, with a useful life of 15 days. The company A002 and A004, obtained similar counts, with a useful life of less than 15 days. The company A003, presented the highest counts, without useful life and presents a count greater than 1000 (CFU) /g, since its production. The organoleptic qualities of all companies were liked by consumers throughout the study; however, an organoleptic analysis was not performed on day 30 of the A003 company, due to its micro-organism count. The subjects that pose a more acidic pH were less prone to attack by microorganisms.

**Keywords:** shelf life, mozzarella cheese, Enterobacteriaceae, Salmonella. Good Manufacturing Practices, hygiene, safety.

## INDICE

1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. Objetivos .....	2
1.1.1. Objetivo general .....	2
1.1.2. Objetivos específicos.....	3
2. MARCO TEÓRICO .....	3
2.1. Vida útil de alimentos .....	3
2.2. Inocuidad de alimentos .....	4
2.3. Buenas Prácticas de Manufactura en empresas alimentarias.	5
2.4. Industria láctea en Ecuador .....	6
2.5. Importancia de la Buenas Prácticas de Manufactura en la Industria Láctea .....	8
2.6. Importancia de las Buenas Prácticas de Ordeño .....	9
2.7. Parámetros considerados en la vida útil de alimento.....	9
2.7.1. Factores microbiológicos.....	9
2.7.2. Parámetros sensoriales.....	10
2.7.3. Potencial de hidrógeno (pH) en alimentos.....	10
2.8. Producto estudiado: Queso Mozzarella.....	11
2.9. Enfermedades transmitidas por alimentos .....	11
2.10. <i>Salmonella</i> en alimentos .....	13
2.11. <i>Salmonella</i> en queso.....	14
2.12. Control de <i>Salmonella</i> en alimentos.....	15
2.13. <i>Enterobacterias</i> en alimentos .....	15
2.14. Enterobacterias en queso .....	16
2.15. Control de enterobacteria en alimentos.....	17
2.16. Normativa para queso mozzarella .....	18
2.17. Otros microorganismos mencionados en la legislación ecuatoriana <i>Listeria Monocytogenes</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> ...	18
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	19

3.1. Manejo del experimento.....	19
3.2. Materiales para el desarrollo del estudio.....	19
3.3. Proceso para el muestro .....	20
3.4. Ubicación del estudio .....	21
3.5. Designación de los tratamientos y manejo de los mismos para el estudio .....	22
3.6 Manejo de las muestras obtenidas de los tratamientos.....	23
3.7. Aplicación del Check list de Buenas Prácticas de Manufactura .....	24
Ponderación de valoración de cumplimiento de Buenas Prácticas de Manufactura.....	27
3.8. Metodología para determinar presencia de <i>Salmonella</i> .....	28
3.9. Metodología para determinar presencia de <i>Enterobacterias</i> . 28	
3.8. Estadísticos aplicados.....	28
3.8.1. Estadísticos para microbiología del estudio.....	29
8.2.1 Estadísticos para atributos sensoriales .....	29
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>30</b>
4.1. Resultados de aplicación de check list de Buenas Prácticas de Manufactura.....	30
4.2.1. Conteo de <i>Salmonella</i> en los diferentes tratamientos.....	31
4.2.2. Conteo de <i>Enterobacterias</i> al día 1 de las cuatro empresas muestreadas .....	31
4.2.3. Conteo de <i>Enterobacterias</i> al día 15 de las cuatro empresas muestreadas .....	32
4.2.4. Conteo de <i>Enterobacterias</i> al día 30 de las cuatro empresas muestreadas .....	33
4.3. Resultados sensoriales .....	35
4.3.1. Resultados sensoriales de color para el tratamiento 1 (A001), tratamiento 2 (A002), tratamiento 3 (A003), y tratamiento 4 (A004), en el día 1, día 15 y día 30 del estudio.....	36
4.3.3. Resultados sensoriales de textura para el tratamiento 1 (A001), tratamiento 2 (A002), tratamiento 3 (A003), y tratamiento 4 (A004), en el día 1, día 15 y día 30 del estudio .....	37

4.4.4. Resultados sensoriales de sabor para el tratamiento 1 (A001), tratamiento 2 (A002), tratamiento 3 (A003), y tratamiento 4 (A004), en el día 1, día 15 y día 30 del estudio .....	38
4.5. Resultados químicos .....	39
4.6. Discusión .....	40
4.6.1 Criterios microbiológicos .....	40
4.6.2. Criterios sensoriales y químicos .....	43
<b>5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>45</b>
5.1 Conclusiones .....	45
5.2 Recomendaciones.....	46
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>48</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>53</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación y codificación para las empresas participantes.....	21
Tabla 2. Descripción de características de la ciudad de Cayambe.....	22
Tabla 3. Designación de los tratamientos para el estudio.....	23
Tabla 4. Días a los que se realizó el primero análisis después de la producción.....	24
Tabla 5. Formato de Buenas prácticas de Manufactura aplicada a empresas de Cayambe.....	25
Tabla 6. Porcentaje de cumplimiento de buenas prácticas de manufactura.....	28
Tabla 7. Calificación de buenas prácticas de manufactura a empresa Cayambe.....	31
Tabla 8. Análisis funcional de 4 empresas (tratamientos).....	36
Tabla 9. Escala de sensorialidad aplicadas a los tratamientos.....	36
Tabla 10. Color en los días 1, 15 y 30, de 4 tratamientos.....	37
Tabla 11. Olor en los días 1, 15 y 30, de 4 tratamientos.....	38
Tabla 12. Olor en los días 1, 15 y 30, de 4 tratamientos.....	39
Tabla 13. Sabor en los días 1, 15 y 30, de 4 tratamientos.....	40
Tabla 14. pH de los diferentes tratamientos al día 1, día 15 y día 30.....	41

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Conteo de <i>Enterobacterias</i> de 4 tratamientos en el día 1.....	33
Figura 2. Conteo de <i>Enterobacterias</i> de 4 tratamientos en el día 15.....	34
Figura 3. Conteo de <i>Enterobacterias</i> de 4 tratamientos en el día 30.....	35

## 1. INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la industria lechera es una herramienta sostenible que potencia el logro del crecimiento económico, la seguridad alimentaria y la disminución de la pobreza, ya que es una fuente regular de ingresos, y la leche es uno de los productos y derivados más consumidos en el mundo, según la FAO, en año 2012 la producción de leche fue de 750.1 millones de toneladas métricas, en Latinoamérica y para el caribe la producción de leche en el 2011 fue de 68.0 millones de toneladas (Fao, 2011). En Ecuador la producción de leche diaria es de 5.3 millones de litros (CIL, 2018). Ecuador al ser un país ubicado en la mitad del mundo, posee condiciones climáticas idóneas para ser un país ganadero y agricultor, las temperaturas que oscilan entre los 4° y 28° y una altitud que va desde 2500 a los 3500 metros sobre el nivel del mar, hacen que presente condiciones ideales para que la producción de leche sea tan favorable (Más leche, 2018). La sierra ecuatoriana es el mayor productor de leche en el país, pichincha destaca por ser el mayor productor de Ecuador con un total de 15.9% del total de producción, esto aporta en gran medida a la economía ecuatoriana. (INEC, 2016). El sector lácteo es uno de los más importantes dentro de su economía, según el Banco Central del Ecuador, esta actividad agroalimentaria genera 1.5 millones de empleos directos e indirectos, con un aporte del 8% al Producto Interno Bruto (PIB) (Banco Central del Ecuador, 2014). Pichincha es la provincia más representativa de esta actividad agroindustrial debido a su tradición ganadera, a Cayambe se le atribuye ser uno de los valles lecheros con más relevancia por su actividad e identidad gastronómica (Torres, 2018). Este cantón posee un número destacable en la producción de lácteos existen micro, pequeñas, medianas empresas involucradas en este rol, en Cayambe existen más de 55 empresas dedicada a la producción de productos lácteos (Agencia Nacional de Regulación, control y vigilancia Sanitaria, 2014). En Cayambe se produce subproductos de la leche como es el queso, existen varias empresas que se dedican a esta actividad las mismas que distribuyen queso a todo el país.

La vida útil de un alimento es el tiempo que posee este después de su producción en condiciones controladas, donde el mismo presenta cambios microbiológico y pérdida en propiedades fisicoquímicas y sensoriales. En el caso del queso el periodo de vida útil es influenciado por dos principales factores, el primero la calidad de la materia prima y el segundo la manera en que se procesa (Buenas Prácticas de manufactura) (Carillo & Reyes, 2013). Las Buenas Prácticas de Manufactura es un compendio de principios y recomendaciones técnicas las cuales se incorporan al procesar alimentos, con el fin de asegurar inocuidad, aptitud y restringir adulteraciones (IICA, 2009). En Cayambe se producen una gran variedad de quesos, pero podemos destacar los más representativos al queso fresco el cual es un producto blando no madurado que está listo para consumirse inmediatamente después de su fabricación, y los quesos de pasta hilada como queso mozzarella el cual es un producto no madurado, blando que posee elasticidad, con estructura fibrosa de hebras largas de proteína cuya orientación está en paralelo, éste no debe presentar gránulos ni corteza (Codex, 2006). El queso mozzarella al ser un queso no madurado debe cumplir los requisitos microbiológicos de NTE INEN 82:2011 primera revisión para quesos no madurados con un índice máximo permisible para identificar nivel de buena de calidad de  $2 \times 10^2$  para *Enterobacteriaceas*, UFC/g, <10 para *Escherichia coli*, UFC/g, 10 para *Staphylococcus aureus* UFC/g, ausencia para *Listeria monocytogenes*/25g y ausencia para *Salmonella* 25g (Inen, 2012). La importancia de esta investigación radica en verificar la vida útil de los productos en condiciones reales de elaboración para:

- Incrementar la vida útil de los productos cuando se demuestre que es posible
- Conocer los mecanismos de degradación de los productos

## 1.1. Objetivos

### 1.1.1. Objetivo general

Evaluar la vida útil de queso producido en Cayambe

### 1.1.2. Objetivos específicos

- Determinar presencia o ausencia de microorganismos patogénicos en quesos elaborados con y sin Buenas Prácticas de Manufactura
- Evaluar la calidad organoléptica de los quesos elaborados con y sin Buenas Prácticas de Manufactura
- Determinar el pH de los quesos elaborados con y sin Buenas Prácticas de Manufactura.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Vida útil de alimentos

Un alimento es un conjunto de características biológicas y fisicoquímicas, por lo que la conservación de éste es un estado holístico y dinámico a través del tiempo, a este estado se le denomina vida útil. (García & Molina, 2008) . La vida útil de los alimentos es el tiempo limitado una vez terminado su elaboración con condiciones controladas de almacenamiento, en este tiempo el alimento tendrá un deterioro de sus características sensoriales, fisicoquímicas y microbiológicas (Carillo & Reyes, 2013). El estudiar y definir la vida útil de los alimentos nos permite conocer el tiempo real de consumo de los mismos, donde las características mencionadas antes están dentro de parámetros establecidos. Se dice que la vida útil de un alimento termina cuando éste presenta alteraciones significativas en sus características, fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales, haciendo que exista un rechazo en el consumidor final o cuando este incumpla los requisitos legales que se le aplican.

Existen varios factores que deben ser identificados que afectan la vida útil de un alimento, los mismos que se clasifican en a) Factores intrínsecos: los cuales hacen referencia a la materia prima, actividad de agua del alimento, pH, disponibilidad de oxígeno, Eh; y b) factores extrínsecos: los cuales hacen referencia a la transformación de la materia prima y como se manipula (procesamiento, manipulación, materiales de empaque, almacenamiento, distribución) (Valencia, Millán, & Jaramillo, 2008). Al conocer la vida útil de un alimento podemos mantenerlos o reemplazarlos en el mercado sin que presente ningún problema o rechazo por parte del cliente o consumidor final, con el objetivo de prever potenciales problemas que puedan afectar a los consumidores como son alergias, enfermedades transmitidas por alimentos, problemas sanitarios etc. (García & Molina, 2008). La manera en que los clientes conocen la vida útil de un alimento es mediante la información de la etiqueta del producto donde se encuentra la fecha de caducidad o la fecha de consumo preferente, ambas son indicadores del fin de un alimento; la fecha de caducidad es la que indica la fecha a partir de la cual el producto no se puede ingerir con el objetivo de evitar problemas sanitarios; y la fecha de consumo preferente nos indica la fecha en que el producto ya no ofrece las mismas características de calidad para el consumidor (Carillo & Reyes, 2013).

## 2.2. Inocuidad de alimentos

La seguridad e inocuidad alimentaria cada día tiene mayor importancia en la sociedad, esto afecta directamente sobre la salud de los consumidores, lo que puede llevar a consecuencias sanitarias, políticas, económicas. La inocuidad de los alimentos es la ausencia, o que exista niveles aceptables de peligro en los alimentos, los mismos que pueden afectar la salud de los consumidores finales, estos peligros pueden ser de naturaleza microbiológica, química o física. La inocuidad de los alimentos juega un papel fundamental para certificar a los alimentos en cada etapa de la cadena alimentaria, abarcando todos sus eslabones desde la producción en campo, cosecha, procesamiento, almacenamiento,

distribución, preparación y consumo; si en todos estos pasos se mantiene un nivel aceptable o ausencia de factores que puedan afectar la seguridad del producto, tendremos alimentos seguros para poder ser consumidos nacional e internacionalmente (FAO, 2019). Al tener un suministro continuo de alimentos inocuos se fortalece la economía, comercio, y turismo, a su vez ayuda a tener una seguridad nutricional en los países, sin olvidar que es uno de los pilares del desarrollo sostenible. La cadena de alimentos mundial es cada vez mayor debido a los recientes cambios en los hábitos de consumo, cada vez más las personas consumen alimentos preparados en lugares públicos o alimentos listo para su consumo, es por eso que se da especial énfasis en mantener una correcta inocuidad alimentaria en toda la cadena de producción (Organización Mundial de la Salud, 2019). Esto se puede aplicar en cualquier tamaño de industria o servicio ya que no es exclusivo de grandes emporios la inocuidad alimentaria debe nacer desde los más pequeños productores.

### 2.3. Buenas Prácticas de Manufactura en empresas alimentarias

Debido a las nuevas directrices en el consumo de alimentos a nivel mundial los controles de estos se hacen cada vez más exigentes en el ámbito de la inocuidad, sanidad y calidad, varios percances en el sector alimenticio que se han suscitado en los últimos 30 años (enfermedad de las vacas locas, contaminación microbiana de frutas y hortalizas, influenza aviar, etc.), han hecho más susceptibles a los consumidores a las condiciones en que estos se elaboran, almacenan y distribuyen, por lo que se busca formas de garantizar que el consumo de los alimentos no presente ninguna afección a la salud, debido a esto varias naciones establecen direcciones y sistemas que salvaguardan la inocuidad en los eslabones de la cadena para crear alimentos. El acuerdo sobre la aplicación de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias (MSF) de la organización mundial del comercio (OMC), ratifica el derecho de las naciones de usar medidas y controles de inocuidad necesarias, las mismas que son justificadas y de aprobación con varios puntos del Acuerdo MSF,

estas son basadas en las Normas del Codex Alimentarios y textos semejantes. Una de las medidas más comunes y más básicas son las Buenas prácticas de Manufactura (BPM) (Díaz & Uría , 2009). Las Buenas Prácticas de manufactura son un compendio de regulaciones federales los cuales se aplican en todos los procesadoras, distribuidoras, y almacenamientos de alimentos entre otros. Son una base legal que determinan si las condiciones, prácticas, parámetros y controles que se usan para procesar, manipular almacenar, distribuir los alimentos son seguros, además mide el grado de sanidad de las instalaciones (Flores C. , 2010). Las BPM surgen como una respuesta a acontecimientos graves relacionados con el fallo en la inocuidad y pureza de medicamentos y alimentos, nace en Estados Unidos en 1906, al momento de la conformación el Federal Food and Drugs Act (FDA), luego en 1938 se introduce el término de inocuidad en el Acta sobre alimentos, Drogas y Cosméticos, pero es en el año 1962 donde se genera el primer manual de Buenas Prácticas de Manufactura, esto por las consecuencias que ocasiono un fármaco en las personas. Después de la creación de este manual se consideraron varias modificaciones y regularizaciones que estandarizan procesos en estas guías las cuales se aplicarían en el área de los alimentos y medicinas (Díaz & Uría , 2009).

Las Buenas Prácticas de Manufactura generan higiene al momento de manipular alimentos hasta que lleguen al consumo humano, esto con el fin de garantizar que los productos se elaboren en condiciones adecuadas y con esto se disminuyan los riesgos congénitos a la producción. (Salgado & Castro, 2007). Las malas prácticas de manipulación de los alimentos o fallos en las instalaciones es una fuente potencial para la contaminación microbiana, esto es uno de los principales factores que están asociados a la aparición de brotes infecciosos.

#### 2.4. Industria láctea en Ecuador

En el Ecuador la elaboración de productos derivados de la leche data de la conquista del Reino de Quito en los años 1532 a 1534, esto gracias a la introducción de las primeras vacas pertenecientes a Alonso Hernández, quien fue compañero de Sebastián de Benalcázar. Cuando ellos abandonaron el país la industria láctea la cual era manejada por ellos paso a manos de los civiles, con los años esta actividad pasó a las haciendas ubicadas en la Sierra, las cuales se dedicaron a la elaboración de productos lácteos, pero principalmente quesos los cuales se comercializaban en lugares aledaños. En la actualidad esto se traduce a las zonas productoras más importantes de leche, las cuales se ubican en las provincias de Carchi, Chimborazo, Cotopaxi, Cañar y Pichincha, en estas provincias existen varias queserías tradicionales, las cuales son manejadas en su mayor parte por pequeños, y medianos empresarios. En la serranía siempre ha prevalecido una ganadería mayormente conformada por pequeños y medianos productores de leche, en su mayoría comunidades conformados por campesinos que se ubicaron en las zonas altas de las montañas, en los años 60 con la Reforma Agraria, se van integrado más actividades agro industriales, las misma que iniciaron con el proyecto de Asistencia Técnica en la elaboración de productos lácteos, aquí se comenzó a elaborar quesos y productos lácteos para la comercialización local y poco a poco fue migrando a otras provincias. Con el tiempo debido a su gran acogida estos productos alcanzaron gran popularidad y muchas otras empresas comenzaron a replicar estos productos (Mora, 2014). En el Ecuador la industria láctea de forma consistente se da desde 1990, pero es en el año 1938 cuando se comenzó a pasteurizar la leche que inicio la cadena productiva de la leche y con esto la elaboración de mejores productos lácteos, con esto llevo a un desarrollo notable de comunidades y familiar enteras. Según la Asociación de Ganaderos de la Sierra y el Oriente (AGSO), en el país existen 3.5 millones de hectáreas destinadas a la producción de leche, en la cual el 75% se concreta en la sierra, en algunas zonas de la sierra la venta de leche y elaboración de productos lácteos es el único sustento de campesinos de las zonas altas de las montañas, donde hay escasa oportunidades de siembra (Real, 2013). Con todo lo mencionada antes se puede afirmar que la industria láctea es una de

las más importantes en el país ya que la leche y sus derivados son productos de consumo masivo, estos productos están presentes en la mayoría de hogares ecuatorianos y forman parte de la canasta básica del país por lo que se debe dar un principal énfasis en su estudio.

## 2.5. Importancia de la Buenas Prácticas de Manufactura en la Industria Láctea

Cuando se habla de producción artesanal y semi industrial de productos lácteos muchas veces existe condiciones limitadas higiénico-sanitarias, por esta razón puede existir una menor calidad de inocuidad en los alimentos. La leche y sus derivados pueden provocar enfermedades, factores como contaminación ambiental, contaminación por crecimiento de patógenos, descomposición de nutrientes, etc. afectan la calidad de la leche y sus derivados. Uno de los principales peligros son los problemas ocasionados por los microorganismos que generar inconvenientes de inocuidad en el sector lechero, ya que la leche es un excelente medio para la proliferación de microorganismos. Esto se puede dar en el proceso de manipulación de la leche, en la transformación a derivados de leche o a su vez en los mismos animales lecheros (Fao, 2020). Al aplicar las buenas prácticas de manufactura en los procesos de transformación de alimentos, bebidas y materias primas disminuye los peligros de intoxicaciones, pérdidas de producto por contaminación o mal manejo, evitar sanciones, etc., al aplicar las Buenas Prácticas de manufactura en la industria láctea, las cuales son parámetros estandarizados por la FDA, contribuyen a que los alimentos sean inocuos y no presenten algún riesgo para la salud del consumidor. Las BPM son procesos imprescindibles en la producción del cualquier producto en la industria láctea. Las Buenas prácticas de Manufactura se aplican a todos los elementos participantes para la elaboración de productos lácteos, esto aplica al personal de la organización, visitantes, proveedores, infraestructura, etc. (Escamilla, 2007). Todos los elementos deben trabajar en conjunto siguiendo las direcciones pautadas en los manuales de BPM para evitar la contaminación de producto y cumplir con la vida útil del producto.

## 2.6. Importancia de las Buenas Prácticas de Ordeño

Las Buenas Prácticas de Ordeño (BPO) son procedimientos, condiciones y controles que se aplican en la producción y procesamiento de la leche, el objetivo de las BPO es reducir peligros y riesgos de factores biológicos, físicos y químicos. El fundamento de las BPO es la inocuidad esto resumido en tres clases de clases de contaminantes como son los físicos (vidrio, metales, madera, cabello, uñas, etc.), contaminantes químicos (antibióticos, micotoxinas, pesticidas) y biológicos (microorganismos). Al asegurar la leche con estos procedimientos, salvaguardamos la integridad y calidad de la leche y los productos elaborados a partir de ella (Tepal, 2015)

## 2.7. Parámetros considerados en la vida útil de alimento

En la industria alimentaria es imprescindible estimar la vida útil de los productos, así se asegura a los consumidores que los alimentos mantienen todos sus atributos en un estado óptimo. Estos atributos se ven afectados por factores intrínsecos y factores extrínsecos, la exposición a estos factores generan cambios en las condiciones de los alimentos, que imposibilitan su distribución y consumo, los más comunes son la pérdida de nutrientes, cambios en los atributos sensoriales y contaminación microbiana (García, Chacón, & Molina, 2011). Para este estudio nos basamos en 3 parámetros que determinan la vida útil de los alimentos como son factores microbiológicos, sensoriales y de pH.

### 2.7.1. Factores microbiológicos

Cuando se habla de aspectos sanitarios, los alimentos son una fuente de infecciones; debido a la presencia de microorganismo patógenos o de intoxicaciones; debido a ingestión de toxinas producidos por microorganismos

patogénicos. Para evitar este escenario se desarrollan medidas de control para minimizar la presencia de microorganismos perjudiciales para el consumidor. Estos microorganismos degradan las características de los alimentos haciendo que su vida útil se acorte. En varios casos la contaminación microbiana se debe a las medidas sanitarias y de higiene que se aplican al momento de transformar las materias primas, haciendo que no sea apto para el consumo humano. Para evitar esta contaminación se debe asegurar condiciones higiénico-sanitarias, esto controlando agentes biológicos, químicos y físicos antes de la producción, en el momento de la producción, almacenamiento, transporte y distribución. Cualquier alimento sea de origen animal o vegetal puede ser contaminado por microorganismos, esto influirá en mayor medida de acuerdo a la actividad de agua de los alimentos (Andino & Castillo, 2010). La actividad de agua es un término para definir cómo interactúan el agua de los alimentos con los demás componentes del mismo, esta agua está disponible para llevar diversas reacciones en los alimentos o para el desarrollo microbiano (Herrera & Bolaños, 2003). Mientras más alta sea la actividad de agua de un alimento más propenso es el desarrollo microbiano.

#### 2.7.2. Parámetros sensoriales

La evaluación sensorial es una herramienta para determinar la vida útil de los alimentos, estas son técnicas que miden la respuesta de los consumidores a los alimentos, es una medida para evaluar la calidad de los alimentos. Es una herramienta subjetiva ya que cada persona tiene su juicio, pero existen parámetros aceptables para definir la calidad sensorial de los alimentos (Carillo & Reyes, 2013). Las cualidades sensoriales se ven afectadas con el paso del tiempo, por malas condiciones de almacenamiento, actividad microbiana, etc.

#### 2.7.3. Potencial de hidrógeno (pH) en alimentos

El pH en la elaboración de alimentos es una medida que indica las condiciones higiénicas para el control de los procesos de transformación, en la leche y sus derivados. El pH debe ser controlado desde el inicio de la recolección hasta la entrega del producto, ya que es uno de los más comunes indicadores de las condiciones higiénicas del producto.

## 2.8. Producto estudiado: Queso Mozzarella

El queso mozzarella es un producto no madurado según la norma General para Queso (Codex STAN 283-1978). Es un queso elástico de textura blanda y fibrosa con largas hebras conformadas de proteína que se disponen en paralelo, esto no presenta ningún grano o relieves, este queso no posee corteza y al momento de envasarlo se la da diversas formas. Existen dos tipos de queso mozzarella los de alto contenido de humedad y los de bajo contenido de humedad. El queso mozzarella de alto contenido de humedad es un producto suave formados por capas sobrepuestas que generalmente forman bolsas que contienen un líquido de aspecto lechoso, a este queso se lo envasa con o sin este líquido lechoso, posee una coloración muy blanca. El queso mozzarella de bajo contenido de humedad, posee una textura firme semi dura, no posee ningún agujero y por lo general se desmenuza. Todos los queso de tipo mozzarella se elaboran con un proceso denominado de “pasta filata”, el cual radica en calentar el queso con pH adecuados antes de seguir con el proceso de mezclar y estirar la pasta, hasta que esta quede sin ningún grumo, con apariencia homogénea y suave. Mientras la pasta este caliente se debe cortar y colocar en sus respectivos moldes para que posteriormente se enfríe en la salmuera. Para la elaboración de mozzarella se aceptan otras maneras de procesarlos, mientras este garantice las mismas características en el producto final (Fao, 2006).

## 2.9. Enfermedades transmitidas por alimentos

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS) se dan por consumir bebidas y alimentos que están contaminados por microorganismos patógenos, estos afectan a la salud del consumidor individual o en forma colectiva. Los síntomas más comunes de estas enfermedades son vómito, diarrea, y de forma más avanzada hepatitis, fiebre, choque séptico, visión doble, convulsiones., etc. Se han descrito alrededor de 250 ETA, la mayoría de estas enfermedades son ocasionadas por parásitos, virus y bacterias; entre las comunes tenemos especies del género *Salmonella*, *Campylobacter* y *Enterobacterias* (Flores & Rojas, 2005). Estas enfermedades que son transmitidas por alimentos. Las ETAS se consideran un problema social, tecnológico, económico, cultural y político, esto debido a que es un problema recurrente en países en vía de desarrollo. El departamento de Bioseguridad, Nutrición y Protección al consumidor (AG) de la FAO, por medio de departamentos técnicos especializados, se involucra cada vez más para conocer y estudiar estas enfermedades; con ello pretenden contribuir y asistir a las naciones mediante capacitaciones, investigación y publicaciones sobre la prevención y tratamiento de estas enfermedades, para que pueden ser anticipadas con la inocuidad alimentaria en el proceso de producción, almacenamiento y distribución de alimentos. (Kopper, Calderón, Schneider, Domínguez, & Gutiérrez, 2009). La principal fuente de transmisión de las enfermedades transmitidas por alimentos son los microorganismos patógenos, esto se puede prevenir o evitar con la detección e investigación por parte de las autoridades sanitarias de las plantas procesadoras de alimentos. Las enfermedades transmitidas por alimentos se diagnostican por medio de cultivos de muestras de alimentos que sean representativos de la producción total de la empresa, y, cuando sea pertinente. Se procede a la identificación del patógeno en base a criterios fisiológicos y morfológicos. Sin embargo, muchas de las enfermedades no son fáciles de asociar con un alimento en específico ya que los resultados demoran, o el vector (alimento) ya no está disponible porque se ha desechado. La identificación de los microorganismos patógenos es una pieza clave para el monitoreo epidemiológicas, por lo que se estandarizan técnicas y protocolos con el propósito de implementar monitoreos en los microorganismos y así poder

prevenir las enfermedades (Flores & Rojas, 2005). Uno de los objetivos de las OMS es brindar la prevención, y detección de respuesta a la amenaza que ofrecen los alimentos contaminados los cuales representan una amenaza a la seguridad alimentaria, para esto la OMS ofrece a las naciones miembros un plan para fortalecer la capacidad de prevenir, detectar y gestionar los peligros de origen alimentario (Organización Mundial de la Salud, 2019)

## 2.10. *Salmonella* en alimentos

La *Salmonella spp*, pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, y es uno de los principales microorganismos responsables de las enfermedades transmitidas por alimentos, la patología que causa se denomina salmonelosis, la cual se traduce como dos patologías diferente, la fiebre tifoidea o en gastroenteritis (Méndez, Badillo, Ortiz, & Adolfo, 2011). La infección producida por el microorganismo de la *Salmonella* afecta al ser humano por consumo de aves, huevos que no han sido sometidos a cocción, o alimentos que han sido elaborados con estos. Esta es una de las afecciones más comunes cuando se habla de enfermedades transmitidas por alimentos en países en vía de desarrollo, el creciente aumento de esta afección es el resultado de combinar factores asociados con el desarrollo de la industria alimentaria en todos los eslabones de su cadena, desde su producción en campo, hasta el almacenamiento y distribución de los alimentos y las malas prácticas en el manejo de los alimentos, además de no preparar la comida de forma correcta. Estos son los principales factores que propician la aparición de este microorganismo. Con el creciente aumento del comercio y distribución informal de productos de origen avícola la transmisión de *Salmonella* ha aumentado, los alimentos que son portadores de este patógeno tienen un impacto inmediato sobre la salud de los consumidores, no solo por el microorganismo que tiene un impacto a la salud, sino por la posible presencia antimicrobiana, las que ayudan a contribuir a la aparición de cepas resistentes. El caso más común por infección de *Salmonella* es la gastroenteritis, el 75% de las muertes por *Salmonella* en estados unidos entre 1990

y 1999 fueron por gastroenteritis y solo el 23% por septicemia, la cual es una infección producidas por bacterias en el torrente sanguíneo, los síntomas de esta afección aparecen entre las 6 y 48 horas después de consumir algún alimento contaminado con *Salmonella*, e influye los típicos síntomas de una enfermedad transmitida por alimentos como son la diarrea, vómito, dolor abdominal fiebre y esto conlleva a la deshidratación lo que puede resultar en una consecuencia fatal para la persona infectada (Uribe & Suarez, 2006). La *Salmonella* es más común en productos de origen aviar, como carnes, embutidos y huevos.

### 2.11. *Salmonella* en queso

La *Salmonella* en quesos y productos lácteos no es muy común, pero puede ocurrir cuando la materia prima (leche), no es pasteurizada. Los microorganismos patógenos pueden encontrarse en la leche cruda, es decir, en la que no ha sido sometida a un proceso térmico, estos procesos son necesarios para proteger la salud de los consumidores y prolongar la vida útil de los productos. Así como las carnes, aves y pescados deben ser cocinados para ser seguros, la leche debe ser pasteurizada. Al someter a la leche al proceso de pasteurización la mayoría de los nutrientes continúan en ella. La enfermedad causada por el patógeno *Salmonella* puede ser contraída, aunque provenga de animales sanos y limpios, ya que estos pueden ser una fuente recurrente de patógenos que pueden enfermar a las personas, además el mal manejo de la leche por parte los operarios también es una fuente para que la *Salmonella* prolifere. Estas enfermedades afectan a todas las personas que estén expuestos a leche o derivados lácteos que estén contaminados, desde el 2007 al 2016, al menos un menor de 5 años resulto enfermo en el 46% de casos por leche sin pasteurizar o derivados de la leche (queso), de este porcentaje el 19% fueron diagnosticados por *Salmonella*. Estos brotes son más comunes en comunidades o estados, donde la venta de leche sin pasteurizar es legal y no tiene ninguna sanción (Especiales de los CDC, 2019). En nuestro país se practica mucho el comercio informal, en especial en lugares cerca del campo donde campesinos y

pequeños productores comercializan sus productos en ferias, o exposiciones. Esto es algo normal y muchas veces no se tiene en cuenta los riesgos sanitarios e higiénicos que lleva elaborar productos alimenticios con leche sin pasteurizar.

#### 2.12. Control de *Salmonella* en alimentos

Una de las principales maneras de controlar la *Salmonella* en los alimentos es someterlos a procesos térmicos, los huevos y sus derivados (poco cocidos o crudos), aves, y pescado son los alimentos más propensos en ser contaminados con *Salmonella*. La exigencia en la higiene del personal es un factor importante para evitar la salmonelosis, el personal debe lavar sus manos con agua caliente y jabón, al iniciar la jornada de trabajo, cuando se use los servicios sanitarios, y antes de manipular alimentos, si algún trabajador presenta casos de diarrea debe comunicarse con su supervisor, para que se tomen medidas de precaución, otra medida de seguridad es mantener a los animales lejos de los lugares donde se procesan alimentos. (Sacyl, 2020). La pasteurización es un proceso térmico que fue creado en 1864 por Louis Pasteur, el objetivo es eliminar en forma completa la flora microbiana patógena, se considera un tratamiento térmico leve ya que es una temperatura inferior a los 100 grados Celsius, esta técnica es de gran utilidad para conservar la vida útil de los alimentos en varios días o incluso meses (Encina, Bernal, & Rojas, 2013). Las medidas antes mencionadas son necesarias para evitar contaminar a los alimentos con *Salmonella*, al usar éstas medidas aseguramos que los alimentos sean inocuos y no presenten riesgos para la salud de los consumidores ya pueden generar pandemias de origen alimentaria, además al acoger estas medidas podemos alargar la vida útil de los alimentos y no acortarla.

#### 2.13. *Enterobacterias* en alimentos

Las *enterobacterias* son bacilos Gram negativos, son los microorganismos más comunes en los laboratorios de microbiología clínica y alimentaria. Muchos

miembros de esta familia están presentes naturalmente del tracto gastrointestinal. También llamadas enterobacteriáceas este grupo de bacterias son patógenos oportunistas cuando el huésped se encuentra débil, o simplemente pueden ser patogénicas. Las enterobacteriáceas están presentes en alimentos como carnes, huevos, y productos lácteos esto como resultado de la contaminación humano/animal. Por lo general la contaminación hacia alimentos se da por un mal manejo en la manipulación del producto, es decir por contaminación fecal, contaminación por agua con presencia de estos patógenos. Estos microorganismos tienen la capacidad de sobrevivir por muchos meses, y se propagan con gran facilidad. Como se mencionó antes son bacterias muy comunes en los alimentos, esto debido a que es muy fácil contaminar a los alimentos de estos patógenos, esto es un problema que afecta a todo el mundo, pero en especial a países en vías de desarrollo, debido a que las condiciones higiénico-sanitarias son menores, y no se tiene protocolos o procedimientos establecidos para prevenir de esta afección (Fao, 1997). Es muy fácil encontrar estos patógenos en alimentos de consumo rápido y en especial en alimentos preparados en la calle, debido a que no existe una fuente segura de agua para limpiar los alimentos, o para el uso de las personas que los preparan. Estas bacterias amenazan la inocuidad alimentaria lo que pueden generar problemas de salud en las personas que consumen estos alimentos, es por eso que se debe mantener un control en el proceso de elaboración de cualquier comida, esto se aplica en los procesos previos a la transformación de la materia prima, seguido por la preparación o transformación alimentos procesados, almacenamiento y distribución de los mismos.

#### 2.14. Enterobacterias en queso

Para la producción de un queso inocuo se debe controlar la materia prima desde el inicio, es decir evitar leches mastíticas, o cualquier leche que presente alguna enfermedad como paratuberculosis, salmonelosis, leucosis bovina, leptospirosis estas son afecciones que las vacas pueden transmitir a la leche. Estas enfermedades

son perjudiciales al momento de elaborar queso, de igual forma la leche de animales que clínicamente están curados pueden hacer surgir percances en la elaboración de estos productos ya que contienen varios elementos bacteriostáticos que inhiben el desarrollo óptimo de los fermentos lácticos. La leche es un alimento muy susceptible para contraer estos patógenos, los microorganismos más recurrentes son bacterias productoras de gas, como los son bacterias de la familia *Escherichia* y *Enterobacter*, ambas forman esporas, mismas que deterioran la calidad de los alimentos y acortan su vida útil, las *enterobacterias* se proliferan rápidamente en los quesos ya procesados, en especial si la cadena de frío se ve afectada, es por eso que es muy fácil que un queso no madurado, tenga recuentos altos de estos patógenos (García D. , 2002). Al igual que la *Salmonella* estos patógenos son más evidentes cuando no se tiene un adecuado manejo al momento de la elaboración de los productos lácteos, ya que estas bacterias se encuentran en el tracto gastrointestinal de animales y humanos, es muy fácil que exista una contaminación de humano/animal hacia el producto, cuando no existe una adecuada higiene del personal al momento de elaborar los productos alimenticios.

## 2.15. Control de enterobacteria en alimentos

Según la Organización Mundial de la Salud la gran mayoría de personas contraerá una enfermedad transmitida por agua o alimentos en alguna etapa de su vida. Esto nos lleva a pensar en la importancia de asegurarnos que los alimentos que estamos ingiriendo sean inocuos, es decir que no contengan contaminación por virus, bacterias, toxinas, productos químicos que puedan afectar nuestra salud o la de los animales. La contaminación de un alimento se puede dar en cualquier eslabón de la producción, preparación y distribución de alimentos, por eso todos los participantes de la cadena alimentaria deben desarrollar de una manera correcta su papel para asegurar que los alimentos sean seguros y libre de peligro para el consumo humano (Organización Mundial de la Salud, 2016). Al realizar de una manera correcta los procesos para transformar las materias primas en alimentos procesados, estamos asegurando que se cumpla su vida útil, la cual debe ser real y estar acorde con lo que promete el fabricante, esto solo se puede dar si se aplican protocolos o parámetros establecidos, como lo son las Buenas prácticas de Manufactura, las que salvaguardan la inocuidad del producto, esto gracias a que

ejercen control en las instalaciones, en el procesos, en los proveedores, y en todas las partes interesadas pertinentes que nos permitan asegurar la calidad sanitaria de los productos.

## 2.16. Normativa para queso mozzarella

En el Ecuador en Servicio Ecuatoriano de Normalización (INEN), es el ente regulador de la normativa que se aplica a queso mozzarella este provee el Plan de Nacional de Normalización que establece los reglamentos técnicos para productos. La norma técnica que se aplica para estos productos es la NTE INEN 82:2011 denominada Queso Mozzarella Requisitos, la cual se encuentra en su e primera edición. El objetivo de esta norma es establece requisitos que debe cumplir el queso Mozzarella destinado al consumidor final. Esta norma hace distinción a dos clases de queso mozzarellas, los quesos mozzarellas de alto contenido de humedad, quesos mozzarellas de bajo contenido de humedad. En cuanto a parámetros microbiológicos la norma establece 5 requisitos de microorganismo con un índice máximo permisible para identificar niveles de buena calidad y un índice máximo permisible que indica los niveles aceptables de calidad. Los microorganismos a los que hace alusión la norma son los siguiente con su respectivo índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad: *Enterobacteriaceas* con un índice de  $10^3$  UFC/g, *Escherichia coli* con un índice de 10 UFC/g, *Staphylococcus aureus* con un índice de  $10^2$  UFC/g, *Listeria monocytogenes* con un índice de ausencia y *Salmonella* con un índice de ausencia. Esta norma se aplica a los quesos mozzarellas que pretendan ser comercializados de forma legal en el territorio ecuatoriano (INEN, 2011).

## 2.17. Otros microorganismos mencionados en la legislación ecuatoriana *Listeria Monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*

La *Listeria Monocytogenes* es la bacteria responsable de causar la enfermedad listeriosis por transmisión alimentaria (ETA), esta enfermedad es de baja frecuencia,

pero es una de las más letales a nivel mundial, la *Listeria Monocytogenes* es un patógeno psicrótrofo, esto quiere decir que se puede desarrollar en temperaturas de refrigeración, lo que la hace especial en comparación con el *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* ( Schöbitz, Ciampi, & Nahuelquin, 2009). El *Staphylococcus aureus* es un patógeno con un gran potencial de causar varias afecciones en los animales y humanos esta especie es considerada la más virulenta, ya que a ella se le atribuyen una gran variedad de afecciones que van desde infecciones tóxicas y tejido blandos hasta infecciones que ponen en riesgo la salud de las personas y animales (Cervantes, García, & Salazar, 2014).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Manejo del experimento

Según la NTE INEN 82, la norma establece cinco requisitos microbiológicos, pero para este estudio únicamente serán analizados dos uno como indicador de inocuidad (*Salmonella*), y otro como indicador de higiene (*Enterobacteriaceas*), esto debido al presupuesto asignado a la investigación.

#### 3.2. Materiales para el desarrollo del estudio

- Queso
- Asa bacteriológica
- Placas Compact Dry para recuento de *Enterobacterias*
- Agar *Salmonella Shigella*
- Cajas Petri
- Incubadora
- Agua peptonada
- Microscopio

- Potenciómetro
- Cámara fotográfica

### 3.3. Proceso para el muestro

En este estudio para determinar el tamaño de la muestra usaremos la fórmula de muestreo de población finita, ya que conocemos el total de la población y queremos saber cuántas empresas debemos estudiar, sin embargo este es un estudio voluntario, donde las empresas buscan saber el estado real de vida útil de sus quesos, se aplicará la siguiente fórmula (Fernández, 1996).

$$n = \frac{N \times Z_{\alpha}^2 \times p \times q}{d^2(N - 1) + Z_{\alpha}^2 \times p \times q}$$

Donde

- $N$  = Total de la población
- $Z_{\alpha}^2$  = representa la seguridad del proceso de muestreo, se desea mínimo un 95% por lo que el valor asignado será de  $1.96^2$
- $p$  = la proporción esperada para este estudio estadístico será del 5% = 0.05
- $q$  = 0.05
- $d$  = precisión es de un 3%

$$n = \frac{26 \times 1.960.005 \times 0.95}{0.03^2(26 - 1) + 1.96^2 \times 0.05 \times 0.95}$$

$$n = 11.80 .$$

Para este estudio  $N$  representa a las empresas asociadas de productores de lácteos de la mitad del mundo, llamada Asoprolamm, actualmente son 26 asociados por lo que este número es el total de la población. Al aplicar la fórmula el tamaño muestral es de 12 empresas. Para encontrar a las empresas interesadas se contactó vía telefónica y se les explico en qué consistía el estudio y los beneficios que aportan para ellos, pese a todo lo explicado la gran mayoría de empresas no estuvieron interesadas, por lo que solo contamos con 4 empresas, dos de ellas con Buenas

prácticas de manufactura y dos sin Buenas Prácticas de manufactura. Para realizar el estudio y comprobar la hipótesis que se planteó se dividió y codificó a las empresas ya que éste es un estudio confidencial. La clasificación fue la siguiente.

Tabla 1.

*Clasificación y codificación para las empresas participantes*

Empresa	Codificación
Empresa sin Buenas Prácticas de Manufactura	A001
Empresa con Buenas Prácticas de Manufactura	A002
Empresa sin Buenas Prácticas de Manufactura	A003
Empresa con Buenas Prácticas de Manufactura	A004

### 3.4. Ubicación del estudio

El estudio se realizará en la ciudad de Cayambe, también conocido como ciudad del son en la mitad del mundo, esta ciudad es un pluricultural que posee una de las más marcadas y arraigadas culturas del norte del Ecuador como son los Cayambis, uno de los principales pueblos de la cultura Caranqui. Cayambe se encuentra localizada al norte de la provincia de Pichincha a 1 hora 30 minutos aproximadamente de la ciudad de Quito, la ciudad de Cayambe limita geográficamente con las provincias de Sucumbíos y Napo al Norte, al Oeste con el cantón Pedro Moncayo, y uno de los principales atractivos el que está situado entre dos hemisferios norte y sur, esto debido a que cruza la Línea Equinoccial o Ecuatorial por lo que posee una latitud 0, en la región interandina (CayambeTurismo, 2018). En la siguiente tabla se encuentra una descripción general de esta ciudad.

Tabla 2.

*Descripción de características de la ciudad de Cayambe*

Datos	Descripción
Superficie	1350 kilómetros cuadrados
Altitud	2830 metros sobre el nivel del mar
Población	85795 habitante
Fecha de cantonización	23 de julio de 1883
Principales productos de la zona	Flores, quesos, cebolla, trigo

Nota: Adaptado de Cayambe turismo 2018

### 3.5. Designación de los tratamientos y manejo de los mismos para el estudio

Para este estudio se contó con cuatro empresas las mismas que se encuentran divididas en empresas certificadas con Buenas prácticas de manufactura y empresas que no cuentan con esta certificación, estos serán nuestros tratamientos de los cuales estudiaremos su vida útil en 3 parámetros: microbiológicos, químicos y sensoriales. Con esto lograremos conocer el estado real de su vida útil y cómo influye las Buenas Prácticas de Manufactura. Los tratamientos designados fueron los siguientes

Tabla 3.

#### *Designación de los tratamientos para el estudio*

Empresa	Tratamiento
Empresa A001	Tratamiento 1
Empresa A002	Tratamiento 2
Empresa A003	Tratamiento 3
Empresa A004	Tratamiento 4

Una vez identificados los tratamientos (empresas), se procedió a visitarla y aplicar un Check list para saber el porcentaje de cumplimiento del mismo, con esto podemos saber cómo se debe proceder microbiológicamente con las muestras.

Todas las empresas poseen registro sanitario y comercializan varios productos derivados de la leche como son los quesos, yogures, dulce de leche, etc. estos tienen una gran acogida en Cayambe y se distribuyen regularmente a las zonas aledañas y a la capital.

### 3.6 Manejo de las muestras obtenidas de los tratamientos

Las muestras fueron recogidas el lunes 2 de diciembre de 2019 en diferentes empresas de Cayambe. Las muestras se recogieron en diferentes tiempos después de la producción como lo indica la tabla 4. Se recolectaron 3 muestras de cada empresa (tratamiento) y se las colocaron a una temperatura de 6 a 8 grados Celsius hasta llegar a los laboratorios de la Universidad de la Américas donde se colocaron en el cuarto frío el cual tiene una temperatura de 2 a 5 grados Celsius. Las muestras se usaron en los respectivos días y se desecharon una vez concluido el trabajo.

Tabla 4.

*Días a los que se realizó el primero análisis después de la producción*

Empresa	Días a los que se realizó el primer análisis después de la producción
A001	2 días después de la producción
A002	5 días después de la producción
A003	3 días después de la producción
A004	2 días después de la producción

Una vez obtenidas las muestras se intentó simular condiciones de refrigeración similares a las de comercialización para ser transportadas (4 a 6 grados Celsius), al llegar a Quito se colocaron en el cuarto frío de la Universidad de las Américas, y enseguida se realizó el primer muestreo. La vida útil de este queso otorgado al obtener el registro sanitario es de 25 a 30 días, por lo que se decidió realizar un estudio con una duración de 31 días. Se realizaron 3 muestreos los cuales se realizaron al inicio, mitad y final de esto 31 días, y se denominaron día 1 al primer

muestreo, día 15 al muestreo intermedio, y día 30 al tercer muestreo. El pH se midió en los días respectivos, sin embargo, el análisis organoléptico se realizó mediante una escala hedónica (Anexo 2), una vez confirmados los análisis microbiológicos (24 horas después de haber hecho los análisis), esto con la finalidad de salvaguardar la salud de los panelistas.

Para el análisis sensorial se realizó una encuesta a 50 panelistas 24 horas después de los días designados para realizar el muestreo microbiológico. Para esto se realizó una prueba descriptiva, la cual cuantifica las percepciones de los atributos sensoriales del producto (color, olor, sabor y textura), esto con la ayuda de los panelistas, ellos describían las características mediante una escala establecida que les permitía juzgar las características organolépticas. Al ser un estudio de 31 días se realizó 3 análisis sensoriales en los diferentes días asignados, esto nos permitió saber cómo las características organolépticas se mantienen o se degradan en el tiempo, y que tan aceptadas son por los consumidores.

### 3.7. Aplicación del Check list de Buenas Prácticas de Manufactura

Se realizó un check list para aplicar a las empresas y saber el grado de cumplimiento de ellas, esto era fundamental ya que estos resultados permitieron saber cuántas diluciones se tenía que manejar para el estudio microbiológico. Este check list es una adaptación de la resolución 067 de BPM, y se colocaron los puntos más pertinentes relacionados a la producción e inocuidad del queso. Se decidió para el día 1 realizar 4 diluciones, para el día 15 se realizaron 6 diluciones y para el día 30 7 diluciones, esto con la primicia que, a mayor contaminación, más diluciones se debía realizar, es por esto y por los resultados del check list que se decidió este número de diluciones. A continuación, se muestra el formato de la lista de Buenas prácticas de Manufactura aplicada a empresas de Cayambe

Tabla 5

*Formato de Buenas prácticas de Manufactura aplicada a empresas de Cayambe*

Lista de Buenas prácticas de Manufactura aplicada a empresas de Cayambe			
Número	Buena Práctica de Manufactura	Cumple	No cumple
1	Ofrece protección contra polvo, materias extrañas, insectos, roedores, aves y otros elementos de ambiente exterior.		
2	La construcción es sólida y dispone de espacio suficiente para a instalación; operación y mantenimiento de los equipos.		
3	Las áreas interiores están divididas de acuerdo con el grado de higiene y al riesgo de contaminación.		
4	Las instalaciones sanitarias no tienen acceso directo a las áreas de Producción		
5	Se dispone de dispensador de jabón, papel higiénico, implementos para secado de manos, recipientes cerrados para secado de manos, recipientes cerrados para depósito de material usado en las instalaciones sanitarias.		
6	Se dispone de dispensadores de desinfectante en las áreas críticas.		
7	Se ha dispuesto comunicaciones o advertencias al personal sobre la obligatoriedad de lavarse las manos después de usar los sanitarios antes de reiniciar las labores de producción.		
8	Diseño y distribución está acorde a las operaciones a realizar.		
9	Las superficies y materias en contacto con el alimento no representan riesgo de contaminación.		
10	Se evita el uso de madera o materiales que no puedan ayudar limpiarse y desinfectarse adecuadamente o se tiene certeza que no es una fuente de contaminación.		
11	Los equipos y utensilios ofrecen facilidades para la limpieza, desinfección e inspección.		
12	Las mesas de trabajo con las que cuenta sin lisas, bordes redondeados, impermeables, inoxidable y de fácil limpieza.		
13	Provista e instrumentación e implementos de control adecuado.		
14	Se mantiene la higiene y el cuidado personal.		
15	El personal dispone de uniformes que permitan visualizar sus limpies, se encuentran en buen estado y limpios.		

- 
- 16 El calzado es adecuado para el proceso productivo (cerrado e impermeable)
  - 17 El uniforme es lavable o desechable y las operaciones de lavado se realizan en un lugar apropiado.
  - 18 Se evidencia que el personal se lava las manos y desinfecta según procedimientos establecidos.
  - 19 El personal acata las normas establecidas que señalan de prohibición de fumar y consumir alimentos y bebidas.
  - 20 El personal de áreas productivas mantiene el cabello cubierto, uñas cortas, sin esmalte, sin joyas, sin maquillaje, barba o bigote cubiertos durante la jornada de trabajo.
  - 21 Las visitas y el personal administrativo ingresan a áreas de proceso con las debidas protecciones y con ropa adecuada.
  - 22 Se realiza controles de las condiciones de operación (tiempo, temperatura, humedad, actividad acuosa (AW), PH, presión, etc., cuando el proceso y naturaleza del alimento lo requiera.
  - 23 No se tiene riesgo de contaminación como agua, goteras o cualquier tipo de sustancia que salpique al alimento en el proceso.
  - 24 Existen procedimientos de producción y están disponibles.
  - 25 Se cuenta con aparatos de control en buen estado de funcionamiento.
  - 26 El tratamiento de tiempo-temperatura aplicado a la leche cruda corresponda un tratamiento de pasteurización.
  - 27 ¿Las personas que manipulan directamente mente el producto usan algún tipo de protector de boca y nariz?
  - 28 ¿En caso de respuesta afirmativa a la pregunta anterior el protector usado tapa eficazmente boca y nariz?
  - 29 ¿Las personas que manipulan directamente el producto tienen las manos limpias, uñas cortas y sin heridas visibles?
  - 30 Durante las opresiones de procesamiento del queso y mientras este se encuentra expuesto, no puede haber opresiones que se realicen al mismo tiempo y
-

---

que tengan riesgo de contaminar y producto que está expuesto.

---

Nota: Adaptado de resolución 067 del manual de Buenas Prácticas de Manufactura

Para estimar el grado de cumplimiento de las empresas se realizó un cuadro de valoración como se indica en la tabla 6, esto se pudo aplicar ya que se calificó cada requisito con cumple y no cumple, los cuales tenían una puntuación de 1 y 0 respectivamente. Se le dio la calificación de 1 (cumple) si cumplía el requerimiento en su mayor parte y no presentaba algún peligro de inocuidad en la producción de queso y se otorgó la calificación de 0 (no cumple), cuando no se cumplía la mayor parte del requisito y si presenta un peligro de inocuidad en la producción del queso. Para finalizar y sacar el porcentaje de cumplimiento se sumó todos los valores de 1 (cumple) y se estimó una relación con el 100 % siendo 30 el más alto, a continuación, se muestra un ejemplo

Si la empresa obtuvo una puntuación de 30 significa que tiene un 100% de ítems cumplidos por lo que su calificación sería excelente, si una empresa tiene una puntuación de 17 significa que tiene un 56,66% de ítems cumplidos, por lo que su calificación sería Regular. Para ver los resultados de las empresas (tratamientos) ver anexo1, anexo 2, anexo, 3 y anexo 4

Ponderación de valoración de cumplimiento de Buenas Prácticas de Manufactura

Tabla 6.

*Porcentaje de cumplimiento de buenas prácticas de manufactura*

---

Cuadro de Valoración	
Ponderación	Porcentaje de ítems cumplidos
Excelente	90-100
Buena	70-89
Regular	50-69
Mala	0-49

---

### 3.8. Metodología para determinar presencia de *Salmonella*

Para la determinación de *Salmonella* se tomaron 25 gramos de cada muestra, esta muestra se coculo en frascos de agua peptonada de 225 mililitros, se mezcló y homogenizo las muestras. Al ser un estudio de 31 días se decidió realizar 4 diluciones en serie para facilitar el conteo de las unidades formadoras de colonia. Una vez realizadas las diluciones se procedió a colocar en el agar *Salmonella Shigella* previamente preparado. Inmediatamente se colocó en la incubadora de la universidad la cual está a una temperatura de 36 grados Celsius y se dejó por 24 horas, tal como lo indica el protocolo del fabricante. Finalmente se procedió a realizar el conteo de microorganismos.

### 3.9. Metodología para determinar presencia de *Enterobacterias*

Para determinar la presencia de *enterobacterias* se tomó 1 gramo de las muestras y se colocaron en un recipiente estéril para evitar contaminación. La muestra se colocó en 9 ml de agua peptonada y se procedió a realizar diluciones seriadas, se homogenizaron con ayuda del vortex. Con una micropipeta de 100µl se colocó 1 ml del líquido proveniente de las diluciones y se colocó en los medios de cultivos específicos para *enterobacterias* (Placas Compact Dry), previamente rotulas e identificadas. Inmediatamente se colocó en la incubadora de la universidad la cual está a una temperatura de 36 grados Celsius y se dejó por 24 horas, tal como lo indica el protocolo del fabricante. Finalmente se procedió a realizar el conteo de microorganismos. Se decidió realizar una trasformación logarítmica, para poder realizar un diseño de bloques completamente al azar, esto con el fin de saber si existen diferencias significativas en el primer muestreo de los tratamientos.

### 3.8. Estadísticos aplicados

### 3.8.1. Estadísticos para microbiología del estudio

Diseño de Bloques completamente al Azar: es un estadístico que considera el efecto de un factor en base a bloques, estos están conformados por tratamientos, con este diseño se pretende comprobar una hipótesis por medio de diferencias entre el resultado de sus muestras (Guaraca & Mariño, 2020).

Prueba de tukey: la prueba de tukey mide todas las diferencias entre las medias de los tratamientos de un experimento, este test para evaluar las hipótesis.

Análisis Funcional de datos: es un análisis estadístico que muestra los cambios entre los resultados de los tratamientos, con esto se evidencia el cambio de las muestras a través del tiempo

### 8.2.1 Estadísticos para atributos sensoriales

Media aritmética: es el valor resultante de la división de la suma del total de los valores de los datos obtenidos (Salazar & Castillo, 2018).

$$Media (X) = \frac{\sum j Xj \cdot fj}{N}$$

Varianza: es una medida de dispersión basada en los cuadrados de las diferentes desviaciones de las observaciones. Está relacionada con la media aritmética (Salazar & Castillo, 2018).

$$S^2 = \frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N}$$

Desviación Estándar: esta mediada constituye la raíz cuadrada de la varianza, esta proporciona el valor promedio de la desviación de los elementos en relación a la media aritmética. (Salazar & Castillo, 2018).

$$S = \sqrt{\frac{\sum (Xi - \bar{X})^2}{n}}$$

Coeficiente de Variación: de denomina como la razón porcentual entre la media aritmética y la desviación estándar.

$$CV = \frac{\sigma}{\mu} \cdot 100\%$$

Rango: mediada de dispersión obtenida por la resta entre los datos cuantitativos máximo y mínimo. (Salazar & Castillo, 2018).

$$Rango = (Max) - (Min)$$

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Resultados de aplicación de check list de Buenas Prácticas de Manufactura

Al aplicar la lista de Buenas Prácticas de Manufactura en los tratamientos (empresas) se evidenció el cumplimiento o no de las mismas, para revisar el check list competo ver Anexo 1, Anexo2, Anexo 3 Anexo 4. En la tabla 7 se muestra el porcentaje de cumplimiento de los tratamientos en BPM.

Tabla 7.

*Calificación de buenas prácticas de manufactura a empresa Cayambe*

Empresa/Tratamiento	Porcentaje de cumplimiento	Calificación
A001 (Tratamiento 1)	100	Excelente
A002 (Tratamiento 2)	100	Excelente
A003 (Tratamiento 3)	60	Regular
A004 (Tratamiento 4)	100	Excelente

Nota: la empresa A001 no posee certificación en BPM, la empresa A002 si posee certificación en BPM, la empresa A003 no posee certificación en BPM, la empresa A004 si posee certificación en BPM.

### 4.2. Resultados microbiológicos

#### 4.2.1. Conteo de *Salmonella* en los diferentes tratamientos

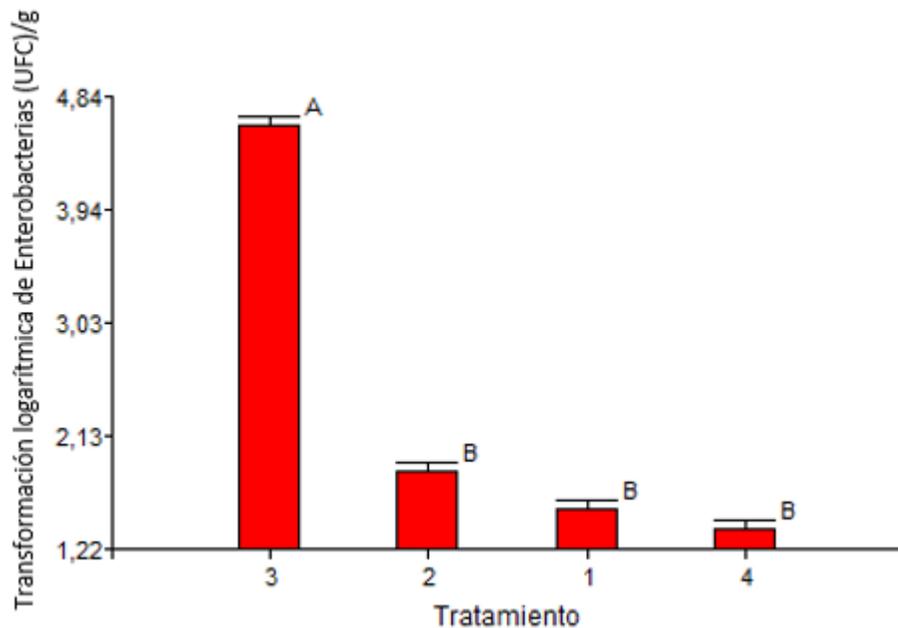
En el estudio se realizó un análisis de salmonella en el día 1, día 15 y día 30, en las empresas A001, A002, A003, y A004. Se realizó la prueba de salmonella, en dos unidades experimentales, haciendo una repetición en cada unidad. El muestro se realizó en 25 gramos de la muestra como lo indica la NTE 082: 2011, sin embargo, no se encontró presencia de este patógeno. Al no encontrar presencia de este patógeno, no se realizó una estadística.

#### 4.2.2. Conteo de *Enterobacterias* al día 1 de las cuatro empresas muestreadas

Estos resultados fueron obtenidos a las 24 horas de incubar las primeras muestras de *Enterobacterias* de los diferentes tratamientos (empresas). Como se puede observar 3 tratamientos poseen resultados similares, sin embargo, una empresa presenta un recuento de microorganismos más alto (4,60 UFC/g).

En el análisis de Adeva utilizando datos transformados, para los diferentes tratamientos en el día 1 se observa el valor  $p < 0,02$ , esto indica que existen diferencias significativas entre los tratamientos T1, T2, T3 y T4. El tratamiento T3 muestra una diferencia con respecto a los demás tratamientos con un conteo de 4,60 (UFC)/g de muestra y se clasifica en el grupo A con respecto a los tratamientos T1, T2 y T4 que se encuentran en el grupo B, esto indica que el conteo de microorganismos fue menor en empresas que presentan Buenas Prácticas de Manufactura. En efecto, los datos promedio de microorganismos en los tratamientos A0001, A0002 y A0004 oscilan entre 1,39 (UFC)/g, 1,54(UFC)/g 1,84 (UFC)/g respectivamente.

La prueba de Tukey al 5% y 1% encuentra diferencias entre las medias por lo que se necesita realizar un análisis de varianza.



p valor	0,02
Coefficiente de variación (%)	4,29
Tukey (%)	5 y 1

Figura 1.

Conteo de *Enterobacterias* de 4 tratamientos en el día 1.

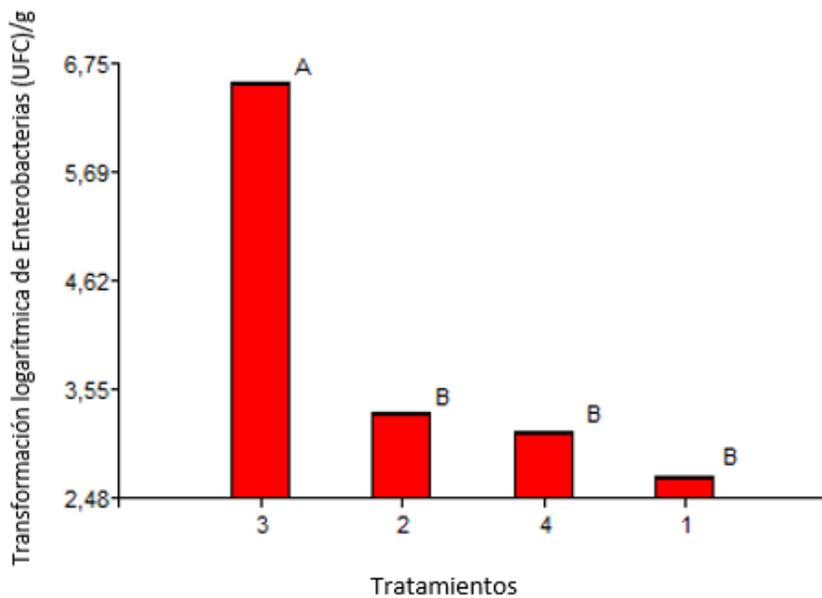
#### 4.2.3. Conteo de *Enterobacterias* al día 15 de las cuatro empresas muestreadas

Estos resultados fueron obtenidos a las 24 horas de incubar las muestras de *Enterobacterias* de los diferentes tratamientos (empresas). Como se puede observar 3 tratamientos poseen resultados similares, sin embargo, una empresa presenta un recuento de microorganismos más alto.

En el análisis de Adeva para los diferentes tratamientos en el día 15 se observa el valor  $p < 0,02$ , esto indica que existen diferencias significativas entre los tratamientos T1, T2, T3 y T4. El tratamiento T3 muestra una diferencia con respecto a los demás tratamientos con un conteo de 6,54 (UFC)/g de muestra y se clasifica en el grupo A con respecto a los tratamientos T1, T2 y T4 que se encuentran en el grupo B, esto

indica que el conteo de microorganismos fue menor en empresas que presentan Buenas Prácticas de Manufactura. En efecto, los datos promedio de microorganismos en los tratamientos A0001, A0002 y A0004 oscilan entre 2,68 (UFC)/g, 3,30 (UFC)/1g 3,10 (UFC)/g respectivamente.

La prueba de Tukey al 5% y 1% encuentra diferencias entre las medias por lo que se necesita realizar un análisis de varianza.



p valor	0,02
coeficiente de variación (%)	0,81
Tukey (%)	5 y 1

Figura 2.

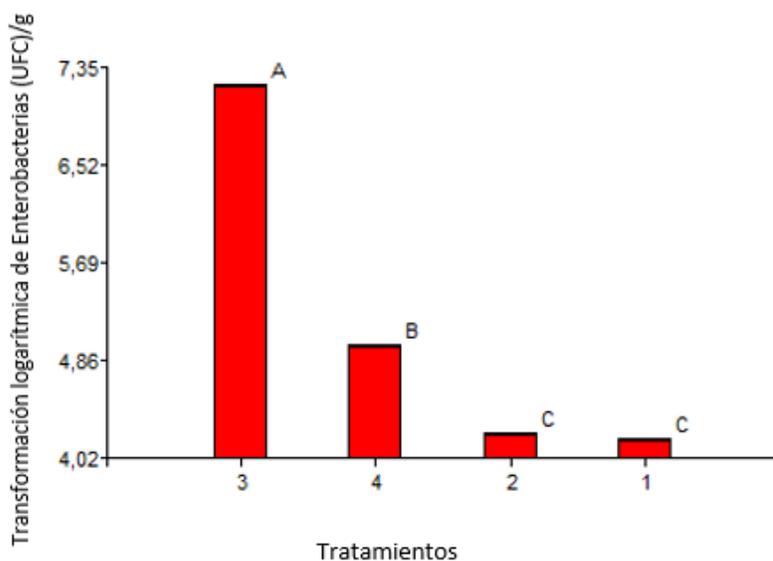
Conteo de *Enterobacterias* de 4 tratamientos en el día 15

#### 4.2.4. Conteo de *Enterobacterias* al día 30 de las cuatro empresas muestreadas

Estos resultados fueron obtenidos a las 24 horas de incubar las muestras de *Enterobacterias* de los diferentes tratamientos (empresas). Como se puede observar 2 tratamientos poseen resultados similares, y los otros 2 empresa presenta un recuento de microorganismos más elevado.

En el análisis de Adeva para los diferentes tratamientos en el día 30 se observa el valor  $p < 0,01$ , esto indica que existen diferencias significativas entre los tratamientos T1, T2, T3, y T4. El tratamiento T3 y T4 muestra una diferencia con respecto a los demás tratamientos con un conteo de 7,18 (UFC)/g, de muestra clasificándose en el grupo A, y 4,98 (UFC)/g de muestra, clasificándose en el grupo B con respecto a los tratamientos T1, Y T2. Los tratamientos T1, y T2 se encuentran el grupo C, esto indica que el conteo de microorganismos fue menor en empresas que presentan Buenas Prácticas de Manufactura. En efecto, los datos promedio de microorganismos en los tratamientos A0001, A0002 oscilan entre 4,18 (UFC)/g y 4,22 (UFC)/g de la muestra respectivamente.

La prueba de Tukey al 5% y 1% encuentra diferencias entre las medias por lo que se necesita realizar un análisis de varianza.



p valor	0,01
Coefficiente de variación (%)	0,41
Tukey %	5 y 1

Figura 3.

Conteo de *Enterobacterias* de 4 tratamientos en el día 30

Análisis funcional de 4 tratamientos en tres diferentes días de muestreo

A continuación, se presenta el análisis funcional que se realizó a los tratamientos en los diferentes días del estudio, se expresa la desviación estándar, la media. Esto se realizó ya que se presentaron diferencias significativas en los resultados de los diferentes días en que se tomaron las muestras, lo que nos indica que la empresa A003 es la que presenta el mayor recuento de microorganismos, seguida por la empresa A004, las empresas A002 y A001, las cuales presentan los menores conteos de microorganismos.

Tabla 8.

*Análisis funcional de 4 empresas (tratamientos)*

Empresa	Enterobacterias día 1	Enterobacterias día 15	Enterobacterias día 30
A001	7,07±35B	35,36±475,00B	703,66±15000,00B
A002	14,14±70B	35,36±1975,00B	707,11±16500,00B
A003	353,55±40250,00A	212132,03±3450000,00 A	353553,39±15250000,0 A
A004	7,07±25,00B	106,07±1275,00B	7071,07±95000,00C

#### 4.3. Resultados sensoriales

Tabla 9.

*Escala de sensorialidad aplicadas a los tratamientos*

Escala de afinidad verbal	Escala de afinidad numérica
Me gusta mucho	7
Me gusta moderadamente	6
Me gusta poco	5
No me gusta ni me disgusta	4
Me disgusta poco	3
Me disgusta moderadamente	2
Me disgusta mucho	1

4.3.1. Resultados sensoriales de color para el tratamiento 1 (A001), tratamiento 2 (A002), tratamiento 3 (A003), y tratamiento 4 (A004), en el día 1, día 15 y día 30 del estudio

Tabla 10.

*Color en los días 1, 15 y 30, de 4 tratamientos*

Día	Tratamiento	Rango	Media	Moda	Mediana	Varianza	Desviación estándar
1	Aoo1	7	6,72	7	3,5	0,96	0,98
	Aoo2	7	6,3	7	3,5	1,23	1,11
	Aoo3	7	5,6	6	3	1,98	1,41
	Aoo4	7	6,1	7	3,5	1,49	1,22
15	Aoo1	7	6,26	6	3	1,4	1,18
	Aoo2	7	5,6	6	3	1,89	1,37
	Aoo3	7	4,56	5	2,5	2,98	1,73
	Aoo4	7	5,1	5	2,5	2,37	1,54
30	Aoo1	7	4,42	5	2,5	4,25	2,06
	Aoo2	7	3,32	5	2,5	5,15	2,27
	Aoo3	7	1,92	3	1,5	6,97	2,64
	Aoo4	7	2,3	4	2	6,3	2,51

Se tabuló las encuestas realizadas y se expresó los resultados con estadística descriptiva como se evidencia en la tabla 10. La empresa A001 presenta mejores puntuaciones sensoriales en el día 1, 15 y 30 destacando la media que se encuentra en 6,72, 6,26 y 4,42 respectivamente. La empresa A003 presenta la media más baja en los días 1, 15 y 30 del estudio, con valores de: 5,6, 4,56 y 1,92 respectivamente. La empresa A002, presenta una media de: 6,3, 5,6 y 3,32 para los días 1, 15 y 30 respectivamente. La empresa A004, presenta una media de: 6,1, 5,1 y 2,3 para los días 1, 15 y 30 respectivamente.

4.3.2. Resultados sensoriales de olor para el tratamiento 1 (A001), tratamiento 2 (A002), tratamiento 3 (A003), y tratamiento 4 (A004), en el día 1, día 15 y día 30 del estudio

Tabla 11.

*Olor en los días 1, 15 y 30, de 4 tratamientos.*

Día	Tratamiento	Rango	Media	Moda	Mediana	Varianza	Desviación estándar
1	Aoo1	7	6,9	7	3,5	0,98	0,99
	Aoo2	7	6,5	6	3	1,2	1,10
	Aoo3	7	5,6	6	3	2	1,41
	Aoo4	7	6,3	7	3,5	1,56	1,25
15	Aoo1	7	5,9	7	3,5	1,6	1,26
	Aoo2	7	5,5	6	3	2,9	1,70
	Aoo3	7	4,2	5	2,5	3,1	1,76
	Aoo4	7	5,1	6	3	2,36	1,54
30	Aoo1	7	4	5	2,5	4,32	2,08
	Aoo2	7	3,39	5	2,5	4,9	2,21
	Aoo3	7	2,4	4	2	6,6	2,57
	Aoo4	7	2,9	4	2	6,2	2,49

Se tabuló las encuestas realizadas y se expresó los resultados en estadísticos descriptivos como se evidencia en la tabla 11. La empresa A001 presenta mejores puntuaciones sensoriales en el día 1, 15 y 30 destacando la media que se encuentra en 6,9, 5,92 y 4 respectivamente. La empresa A003 presenta la media más baja en los días 1, 15 y 30 del estudio, con valores de: 5,6, 4,2 y 2,4. La empresa A002, presenta una media de: 6,5, 5,5 y 3,39 para los días 1, 15 y 30 respectivamente. La empresa A004, presenta una media de: 6,3, 5,1 y 2,9 para los días 1, 15 y 30 respectivamente.

4.3.3. Resultados sensoriales de textura para el tratamiento 1 (A001), tratamiento 2 (A002), tratamiento 3 (A003), y tratamiento 4 (A004), en el día 1, día 15 y día 30 del estudio

Tabla 12.

*Olor en los días 1, 15 y 30, de 4 tratamientos.*

Día	Tratamiento	Rango	Media	Moda	Mediana	Varianza	Desviación estándar
1	Aoo1	7	6,65	7	3,5	0,95	0,97
	Aoo2	7	6,1	6	3	1,37	1,17
	Aoo3	7	5,4	6	3	2,3	1,52
	Aoo4	7	5,9	7	3,5	1,78	1,33
15	Aoo1	7	6,45	7	3,5	1,79	1,34
	Aoo2	7	5,7	6	3	3,1	1,76
	Aoo3	7	4,33	5	2,5	3,7	1,92
	Aoo4	7	5,2	6	3	2,45	1,57
30	Aoo1	7	4,29	5	2,5	4,6	2,14
	Aoo2	7	3,36	5	2,5	5,1	2,26
	Aoo3	7	2,1	3	1,5	6,7	2,59
	Aoo4	7	2,4	3	1,5	6	2,45

Se tabuló las encuestas realizadas y se expresó los resultados en estadísticos descriptivos como se evidencia en la tabla 12. La empresa A001 presenta mejores puntuaciones sensoriales en el día 1, 15 y 30 destacando la media que se encuentra en 6,65, 6,45 y 4,29 respectivamente. La empresa A003 presenta la media más baja en los días 1, 15 y 30 del estudio, con valores de: 5,4, 4,33, y 2,1 respectivamente. La empresa A002, presenta una media de: 6,1, 5,7, y 3,36 para los días 1, 15 y 30 respectivamente. La empresa A004, presenta una media de 5,9, 5,2 y 2,4, para los días 1, 15 y 30 respectivamente.

4.4.4. Resultados sensoriales de sabor para el tratamiento 1 (A001), tratamiento 2 (A002), tratamiento 3 (A003), y tratamiento 4 (A004), en el día 1, día 15 y día 30 del estudio

Tabla 13.

*Sabor en los días 1, 15 y 30, de 4 tratamientos.*

Día	Tratamiento	Rango	Media	Moda	Mediana	Varianza	Desviación estándar
1	Aoo1	7	6,7	7	3,5	1,1	1,05
	Aoo2	7	6,2	6	3	1,4	1,18
	Aoo3	7	5,6	6	3	2,6	1,61
	Aoo4	7	5,8	6	3	1,9	1,38
15	Aoo1	7	6,2	5	2,5	1,98	1,41
	Aoo2	7	5,8	5	2,5	3,3	1,82
	Aoo3	7	4,33	5	2,5	3,9	1,97
	Aoo4	7	5,3	6	3	2,6	1,61
30	Aoo1	7	4,3	6	3	4,8	2,19
	Aoo2	7	2,3	5	2,5	5,2	2,28
	Aoo3	-	-	-	-	-	-
	Aoo4	7	2,4	4	2	6,2	2,49

Se tabuló las encuestas realizadas y se expresó los resultados en estadísticos descriptivos como se evidencia en la tabla 13. La empresa A001 presenta mejores puntuaciones sensoriales en el día 1, 15 y 30 destacando la media que se encuentra en 6,7,6,2, y 4,3, respectivamente. Para la empresa A003 no se realizó el análisis sensorial para el día 30, ya que presento valores muy altos en este día en los análisis microbiológicos. La empresa A003 presenta la media más baja en los días 1, 15 del estudio, con valores de: 5,6, y 4,33. Esto coincide con los resultados microbiológicos, ya que la empresa A003 presento el mayor conteo con un máximo de: 7,18 (UFC)/g, para el día 30. La empresa A002, presenta una media de: 6,2,5,8, y 2,3, para los días 1, 15 y 30 respectivamente. La empresa A004, presenta una media de 5,8, 5,3, y 2,4, para los días 1, 15 y 30 respectivamente.

#### 4.5. Resultados químicos

Resultados de análisis químicos (medición de pH) realizados a las empresas (tratamientos) en el día 1, día 15 y día 30.

Tabla 14.

*pH de los diferentes tratamientos al día 1, día 15 y día 30*

	pH Día 1	pH Día 15	pH Día 30
Tratamiento 1 (A001)	5.7	5.6	5.6
Tratamiento 2 (A002)	5.8	5.8	5.7
Tratamiento 3 (A003)	6.2	5.8	5.8
Tratamiento 4 (A004)	5.6	5.5	5.3

La tabla muestra el cambio de pH de las diferentes muestras en todo el tiempo que duro el estudio, como se ve todos los tratamientos cambiaron su pH. La empresa A003 inició con un pH más alto, en comparación con las otras empresas. El pH con el que termino en el día 30, es con el que debió iniciar en el día 1. Las empresas A001, A002, y A004, iniciaron con pH similares, y descendieron de forma similar, a través del tiempo.

#### 4.6. Discusión

##### 4.6.1 Criterios microbiológicos

En el Ecuador la norma que rige la elaboración legal de queso mozzarella es la NTE INEN 82:2011, en ella hace referencia a cinco requisitos de límites máximos o ausencia de microorganismos: *Enterobacteriáceas*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella*. Los tres primeros son indicadores de higiene del producto y los dos últimos microorganismos como indicadores de inocuidad. Las *Enterobacterias* indican el máximo permisible de microorganismos para indicar buena calidad y el máximo permisible para identificar un nivel aceptable de calidad, por lo que es un indicador de higiene para el queso. La *Salmonella* es un indicador de inocuidad para el queso ya que en este no existe un mínimo aceptable; si no ausencia o presencia. La higiene según la OMS, es un compendio de condiciones y medidas que garantizan la salubridad, que deben estar presentes en todas las etapas de elaboración de alimentos desde su producción hasta la conservación (OMS, 2016). La inocuidad se refiere a la existencia y control

de peligros (microorganismos), que puedan estar presentes en los alimentos, estos pueden ocasionar, problemas graves a la salud de los consumidores (Fierro, 2014). La norma INEN agrupa a la familia Enterobacteriaceae en una categoría a diferencia de otras normas extranjeras, como es el caso de Perú donde rige la Norma Sanitaria (INACAL, 2019). La norma técnica peruana que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo de quesos no madurados, hace referencia al conteo de *Coliformes*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella*. Esta norma individualiza microorganismos de la familia de Enterobacteriaceae; a diferencia de la norma ecuatoriana que une a toda la familia. Por este motivo los quesos presentan un recuento alto de microorganismos, ya que la legislación abarca a toda la familia de Enterobacteriaceae. En el estudio los tratamientos T1, T2 y T4 cumplen con la legislación ecuatoriana en el primer muestreo (antes de los 15 días) ya que presentan un conteo inferior a 1000 (UFC)/g el tratamiento T3 sobrepasa el límite permitido por la legislación ecuatoriana que son 1000 UFC/g, por lo que según la NTE INEN 82 su vida útil habría finalizado antes de los 15 días de haber sido elaborados. Una de las razones por lo que podría presentar un recuento alto de microorganismo es la omisión de Buenas Prácticas de Manufactura que son medidas o protocolos necesarios para asegurar la inocuidad en los alimentos, si bien existe un porcentaje de aplicación de BPM en la empresa T3, no existen los debidos protocolos de higiene para manipular el queso. (Díaz & Uría, 2009). Según la lista de verificación aplicada, esta empresa no cumple con lineamientos como son: implementos para un correcto lavado de manos, dispensadores de desinfectantes, uso correcto del uniforme, registros que controlen correctamente de proceso de pasteurización y refrigeración. Según Castañeda, la higiene en el personal es un factor clave para controlar la carga microbiana de los alimentos, el uso correcto de mascarillas reduce la probabilidad de transmitir microorganismos de la familia Enterobacteriaceae, a los alimentos en el proceso de producción (Castañeda, 2013). Las enterobacterias se encuentran en el tracto digestivo, o respiratorios de los animales, lo cual es completamente estándar en los

organismos, sin embargo, éstas pueden influir en el desarrollo de afecciones patogénicas para el ser humano (Alkemo, 2018); por lo que un mal manejo en los protocolos de elaboración de queso puede influir en un recuento alto de patógenos. Por otra parte, la temperatura óptima para que las enterobacterias crezcan es de 22 a 37 °C, por lo que, si no existe una adecuada refrigeración, estamos creando un ambiente ideal para la proliferación de estos patógenos. La cadena de frío mantiene una temperatura constante en todas las etapas de producción, transporte, almacenamiento y venta (Singh & Heldman, 2009). La temperatura ideal para almacenar queso no madurados es entre los 4 y 8 °C, las temperaturas bajas hacen más lentos los procesos de reproducción de microorganismos, cuanto más baja es la temperatura, menor será la capacidad de los microorganismos de proliferar, por lo que la refrigeración en productos lácteos es de gran importancia para alargar o mantener la vida útil de los quesos. (Plank, 1984). En la empresa A003, se evidenciaba un registro de temperatura de refrigeración; sin embargo, este no poseía todos los requisitos para asegurar que se tenía una correcta refrigeración del producto. Un registro de temperatura debe contar con un procedimiento general el cual pueda asegurar la comprobación y registro de las temperaturas. Este registro debe contar con la responsabilidad de aplicación y alcance, esto con el fin de asignar un responsable que pueda rendir cuenta de ello (Llangarí, 2009).

Incluso, en Cayambe, muchas veces no se realiza el transporte de los productos en vehículos adecuadamente refrigerados, por lo que en ese momento inicia el deterioro de su vida útil o su vida en anaquel. Para los días 15 y 30 los microorganismos siguieron creciendo de forma normal y predecible para los tratamientos T1, T2 y T4. El tratamiento T3 siguió presentado el recuento más alto de microorganismos, esto se pudo deber a que la leche no siguió un adecuado proceso de pasteurización. El tratamiento T3 al no poseer BPM no se controla de una forma correcta los procesos de pasteurización ni se evidencia un correcto registro de temperaturas y tiempo (Luigi, Rojas, & Valbuena, 2013). Por lo que se

puede asociar que una mala pasteurización aumente el conteo microbiológico. Como lo vimos antes la mejor manera de tener mantener y prolongar la vida útil de los alimentos es mediante procesos térmicos que se le aplican a la leche para que pueda ser transformada de forma segura después en productos lácteos, esto según Romero del Castillo y Mestres indican que una correcta pasteurización es la base para obtener productos inocuos y de alta calidad (Romero del Castillo & Mestres, 2004). Según la FAO, existen condiciones de pasteurización, las cuales dictan que calentar cada partícula de leche a 72 grados Celsius, durante 15 segundos o a 63 grados Celsius durante 30 minutos (FAO, 2011).

#### 4.6.2. Criterios sensoriales y químicos

El cambio en el perfil microbiológico también ocasiona un cambio en el perfil sensorial de los productos, como se evidencia en el estudio, todos los tratamientos en el primer muestreo mantienen perfiles de sensorialidad similares y con el paso del tiempo esto va cambiando (Carpenter, Lyon, & Hasdell, 2002). El atributo en el que más se evidenció estos cambios fue en el sabor, es decir en el sentido del gusto, el cual inicia cuando las minúsculas moléculas que se desprenden al masticar o beber alimentos interactúan con nuestras papilas gustativas, los alimentos modifican la sensorialidad de los productos por la presencia de microorganismos, esto hace que se perciba de forma diferente, la sensorialidad de los alimentos también es una parte de la vida útil de los alimentos (Miranda, 2012). Los valores del gusto poseen valores que van de: 5,8 al 6,7 para el día 1, 6,2 al 5,3 para el día 15 y 4,3 al 2,4 para el día 30. Un alimento debe mantener todas sus propiedades antes mencionadas para describir la vida útil de los alimentos y sin duda el más apreciado por los consumidores es el del sabor, por lo que un alimento debe mantener esta cualidad (Ibáñez & Barcina, 2001). Con los valores antes mencionados, se puede evidenciar que los quesos mantienen un buen sabor al pasar los 15 días. Otro cambio que se evidenció en queso fue su textura, ya que en el queso es muy común, esto debido a las enzimas microbianas proteolíticas y el

pH que logran alterar las fibras del queso, modificando su textura (Wittig de Penna, 2001). En el día 15 todos los tratamientos mantenían sus cualidades organolépticas en un estado aceptable por lo que sensorialmente la vida útil de los quesos de los tratamientos supera los 15 días, con promedio que van desde 6,45 al 4,33. En la norma INEN 082:2011 no hace referencia a ningún parámetro organoléptico, sin embargo, como ya se mencionó es el mejor referente para los consumidores a la hora de decir dónde finaliza la vida útil de los alimentos. El pH es uno de los indicadores del cambio del queso en el tiempo, además de ser un factor que protege a los quesos del crecimiento microbiológico (Carpenter, Lyon, & Hasdell, 2002). El cambio de pH obedece a la variación del ácido láctico que provocan las bacterias lácticas, esto mediante la degradación de lactosa por la producción de ácido láctico. Esta es la principal función de los cultivos lácticos, estas bacterias absorben la lactosa que luego se hidrolizará por una enzima llamada fosfo- $\beta$ -galactosidasa, lo que genera glucosa y galactosa-6-fosfato (Pacheco, 2004). Luego, estos compuestos son metabolizados por medio de la glucólisis a triosa fosfato, que posteriormente se convertirán en piruvato y lactato, lo que ocasionara un cambio en el pH de los quesos (Pacheco, 2004). Los quesos que son más ácidos poseen una mejor acción para conservar la calidad microbiológica del queso y por ende las cualidades organolépticas del producto. El queso mozzarella es un producto más ácido en comparación a otros quesos (fresco), esto debido a que se elabora con ácido cítrico o con fermentos lácteos. La mayoría de bacterias proliferan en ambientes neutros, por lo que un inicio se debe tener el pH ideal para el queso mozzarella, el tratamiento T3 es el que tenía un pH mayor por lo que se supone que es el que estaba propenso a un mayor crecimiento microbiano, el cambio que se evidenció no fue muy notorio en los tratamientos T1, T2 y T4, mientras que en el tratamiento T3 el cambio fue de casi un punto. Otro factor que influye es el grado de responsabilidad de la organización al momento de elaborar los alimentos, ya que el tratamiento T1 no posee certificación en Buenas Prácticas de Manufactura, sin embargo, es el que mejor mantiene sus cualidades microbiológicas, sensoriales y químicas (pH).

## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

Se determinó la presencia o ausencia de microorganismos patogénicos en quesos mozzarella producidos en Cayambe, esto se realizó durante un mes en tres diferentes muestreos (inicio, mitad y final de mes), se concluyó ausencia de *Salmonella* en todos los quesos de los tratamientos. Existió un crecimiento de *enterobacterias* en el transcurso del mes haciendo que la vida útil para para el tratamiento T1 sea de más de 15 días con un valor de: 2,69 (UFC)/g, Para el tratamiento T2 Y T4 la vida útil es menor de 15 días con valores de: 3,30 (UFC)/g y 3,10 (UFC)/g, ya que no está dentro de la norma que establece 1000(UFC)/g. Para el tratamiento T3 no podría ser comercializado ya que este supera los límites permitidos desde el momento de su producción 4,60 (UFC)/g, esto según la NTE INEN 82 que limita un recuento de enterobacterias a un máximo de 1000 (UFC)/g.

Las cualidades organolépticas que más cambiaron en los quesos de los tratamientos fueron el sabor y la textura, esto debido a la presencia de microorganismos que modifican estas características. Para el T1 la característica del sabor se mantuvo en todo el estudio, con promedios para su sabor de: 6,7, 6,2 y 4,3 para el día 1, 15, y 30, respectivamente. Y con promedio de textura de: 6,65, 6,45, y 4,49, para el día 1, 15, y 30, respectivamente. Para el T2 el sabor obtuvo promedio de: 6,2, 5,8, y 2,3, para el día 1, 15, y 30, respectivamente. Y con promedio para la textura de: 6,2, 5,8, y 2,3, para el día 1, 15, y 30, respectivamente. Para el T3 el sabor obtuvo promedio de: 5,6, y, 4,33 para el día 1, y día 15, respectivamente. Y con promedio para la textura de: 5,4, 4,22, y, 2,21, para el día 1, 15, y 30, respectivamente. Para el T4 la textura obtuvo promedio de: 5,9, 5,2, y, 2,4,

para el día 1, y día 15, respectivamente. Y con promedio para el sabor de: 5,8, 5,3, y, 2,4, para el día 1, 15, y 30, respectivamente.

Al determinar el pH en los quesos de los tratamientos se determinó que aquellos que tenían pH más ácido estuvieron mayor protegidos a la proliferación de enterobacterias: T1, T2 y T4. El T1 presenta valores de: 5,7, 5,6 y 5,6 para el día 1, día 15 y día 30 respectivamente. El T2 presentó valores de: 5,8, 5,8 y 5,7 para el día 1, día 15 y día 30. El T4 presenta valores de: 5,6, 5,8 y 5,8 para el día 1, día 15 y día 30 respectivamente. El tratamiento T3 fue el que presentó un mayor pH al inicio del estudio por lo que estuvo más propenso a la proliferación microbiana, con valores de 6.2, 5.8 y 5,8, para el día 1, día 15 y día 30 respectivamente, por lo que se supone que estuvo más propenso al ataque de microorganismos indicadores de higiene en el transcurso del estudio.

En base a los resultados se puede comprobar la hipótesis que se planteó, comprobando que las empresas (A002 y A004) con Buenas Prácticas de Manufactura presentaron un mayor tiempo de vida útil frente a las que no tenían certificación. Sin embargo, en este estudio la empresa (A003) que no posee certificación en Buenas Prácticas de manufactura, aunque si las aplica en todo momento, obtuvo el recuento más bajo de microorganismos. También obtuvo mejores puntuaciones organolépticas y el pH más adecuado para elaborar quesos mozzarella.

## 5.2 Recomendaciones

Para mantener o alargar la vida útil de los alimentos es necesario aplicar Buenas Prácticas de Manufactura al momento de elaborar los productos, en especial en la higiene de los operarios. En efecto ellos están en contacto directo con el producto, así que un adecuado lavado de manos, correcto uso del uniforme, etc. puede ayudar a salvaguardar la integridad de los productos.

Los procesos térmicos que se le den a la leche antes de elaborar los quesos, juegan un papel fundamental para eliminar o reducir la carga de microorganismos (higiene e inocuidad). De igual forma si tiene una materia prima (leche) de alta calidad seguramente los productos elaborados a partir de ella tendrán una alta calidad.

Mantener una correcta cadena de frío en el proceso de elaboración, almacenamiento, distribución y venta, salvaguardan la integridad del producto, ya que retrasa el crecimiento de microorganismos que degradan la vida útil de los productos y pueden afectar la salud del consumidor

Se debe considerar elaborar los quesos con pH ácidos ya que estarán más protegidos al crecimiento microbiano que los que presenten pH más elevados. Esto aumenta su vida útil haciendo que mantenga un recuento bajo de microorganismos y cualidades organolépticas idóneas para quesos.

## REFERENCIAS

- Alkemo. (2018). Tres ideas sobre las enterobacterias y su presencia en alimentos. Recuperado el 14 de enero de 2020, de <https://alkemi.es/blog/3-ideas-sobre-las-enterobacterias-y-su-presencia-en-alimentos/>
- Andino, F., & Castillo, Y. (2010). Un enfoque práctico para la inocuidad alimentaria. Estelí: Universidad Nacional de Ingeniería UNI-Norte.
- Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria. Base de dato de permiso de funcionamiento (2014). Recuperado Julio, 7, 2019 de [www.controlsanitario.gob.ec](http://www.controlsanitario.gob.ec)
- Banco Central del Ecuador. (2014). Banco Central del Ecuador. El Dinero Electrónico, 2014. Recuperado el 17 de enero de: <https://www.bce.fin.ec/index.php/estadisticas-economicas>
- Carrillo, M., Reyes, A., (2013). Vida útil de los alimentos. Reduperado Julio, 7, 2019 de <https://dialnet.unirioja.es>
- Carillo, M., & Reyes, A. (2013). Vida útil de los alimentos. Recuperado el 15 de enero de 2020, de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5063620>
- Carpenter, R., Lyon, D., & Hasdell, T. (2002). Análisis sensorial en el desarrollo y control de la calidad de alimentos. Acribia.
- CayambeTurismo. (2018). Historia. Recuperado el 14 de enero de 2020, de <https://cayambeturismo.gob.ec/historia/>
- Cervantes, E., García, R., & Salazar, P. M. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. Revista latinoamericana de patología clínica y medicina de laboratorio, 61(1), 28-40.
- Centro de la Industria Láctea. (2015). La Leche del Ecuador, Historia de la lechería ecuatoriana. Recuperado Julio, 7, 2019 from <https://cilecuador.org>
- Codex. (2006). Norma del Codex para la mozzarella.
- Díaz, A., & Uría, R. (2009). Buenas Prácticas de Manufactura Una guía para pequeños y medianos agroempresarios. Miami: IICA.
- Encina, R., Bernal, A., & Rojas, D. (2013). Efecto de la temperatura de pasteurización y proporción de mezclas binarias de ulpa de carambola y mango sobre su capacidad antioxidante lipofílica. Lima: Ingeniería Industrial.

- Escamilla, J. (2007). Buenas Prácticas de Manufactura y Procedimientos de Operación Estándar de Sanidad, para la industria láctea. Recuperado el 14 de enero de 2020, de <https://pdfs.semanticscholar.org/aadb/dc4a0dff0f78a40702abb6b6f618a9a287d8.pdf>
- Especiales de los CDC. (2019). Leche cruda sin pasteurizar. Recuperado el 15 de enero de 2020, de <https://www.cdc.gov/spanish/especialescdc/lechecruda/index.html>
- Fao. (1997). Aspectos de la calidad asociada con los productos pesqueros. Recuperado el 14 de enero de 2020, de <http://www.fao.org/3/t1768s/T1768S00.htm>
- Fao. (2006). Norma del Codex para la mozzarella. Recuperado el 14 de enero de 2020, de [related:www.fao.org/input/download/standards/10749/CXS\\_262s.pdf](related:www.fao.org/input/download/standards/10749/CXS_262s.pdf) Norma del Codex para la mozzarella
- FAO. (2019). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Recuperado el 15 de enero de 2020, de <http://www.fao.org/food-safety/es/>
- Fao. (2020). Portal lácteo, peligros para la salud. Recuperado el 14 de enero de 2020, de <http://www.fao.org/dairy-production-products/products/peligros-para-la-salud/es/>
- Fao. (2011). Situación de la lechería en américa latina y el caribe en 2011.
- Fernández, P. (1996). Determinación del tamaño muestral. Cad Aten Primaria.
- Flores, C. (2010). Buenas Prácticas de Manufactura. Recuperado el 15 de enero de 2020, de <https://es.scribd.com/document/221674544/Buenas-Practicas-de-Manufactura-Bpm-Una-Aproximacion>
- Flores, T., & Rojas, R. (2005). Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. México, D,F: Salpud pública de México.
- García, C., & Molina, M. (2008). Estimación de la vida útil de una mayonesa mediante pruebas aceleradas. Revista Ingeniería, 57.

- García, C., Chacón, G., & Molina, M. (2011). Evaluación de la vida útil de una pasta de tomate mediante pruebas aceleradas por temperatura. San José: Ingeniería 21.
- García, D. (2002). Presencia de bacterias coliformes en quesos frescos de leche de vaca en diferentes fases de producción elaborados artesanalmente en municipio de San José PINULA. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Guaraca , A., & Mariño, G. (Miércoles de 01 de 2020). Academia edu. Obtenido de [https://www.academia.edu/37684587/DISE%C3%91O\\_DE\\_BLOQUES\\_COMPLETAMENTE\\_AL\\_AZAR\\_DBCA\\_](https://www.academia.edu/37684587/DISE%C3%91O_DE_BLOQUES_COMPLETAMENTE_AL_AZAR_DBCA_)
- Herrera, C., & Bolaños, N. (2003). Química de Alimentos Manual de Laboratorio. San José: Editorial de la Universidad de Costa Rica.
- Ibáñez, F., & Barcina, Y. (2001). Análisis sensorial de alimentos: métodos y aplicaciones. Taylor & Francis.
- INEN. (2011). Queso mozzarella. Requisitos. Recuperado el 15 de enero de 2020, de <https://181.112.149.204/buzon/normas/82.pdf>
- INEN. (2012). NTE INEN 1528: Norma general para quesos frescos no madurados. Recuperado en April 16, 2019, from <https://studylib.es/doc/5725816/nte-inen-1528--norma-general-para-quesos-frescos-no-madur...>
- INEC. (2016). Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua. Recuperado Julio, 7, 2019 de: <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/encuesta-de-superficie-y-produccion-agropecuaria-continua-bbd/>
- Intituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, (2009). Buenas Prácticas de Manufactura una guía para pequeños y medianos agroempresarios. Recuperado en Julio, 7, 2019 de <http://www.iica.int/es>
- Kopper, G., Calderón, G., Schneider, S., Domínguez, W., & Gutiérrez, G. (2009). Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. Recuperado el 15 de enero de 2020, de <http://www.fao.org/3/i0480s/i0480s.pdf>
- Llangarí, P. (2009). Tecnología para la elaboración de productos lácteos. Quito, EC: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina, Programa de Ganadería de Leche, 1991.

- Luigi, T., Rojas, L., & Valbuena, O. (2013). Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda y pasteurizada expendida en el estado Carabobo, Venezuela. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, 10(2), 119-124.
- Más leche (2018). La Sierra ecuatoriana: cuna de la leche. Recuperado Julio, 7, 2019 de <http://masleche.ec>
- Méndez, I., Badillo, C., Ortiz, G., & Adolfo, A. (2011). Caracterización microbiológica de Salmonella en alimentos de venta callejera en un sector universitario de Bogotá, Colombia. Julio a octubre de 2010. Recuperado el 15 de enero de 2020, de <https://revistas.uis.edu.co/index.php/revistamedicasuis/article/view/2559>
- Mora, J. (2014). La Industria alimenticia y los productos lácteos. Estudio de factibilidad para la creación de una empresa productora y comercializadora de productos lácteos ubicada en la parroquia de San José de Minas, Cantón Quito, Provincia Pichincha. Recuperado el 15 de enero de 2020, de <http://www.dspace.cordillera.edu.ec/xmlui/handle/123456789/723>
- Organización Mundial de la Salud. (2016). 10 datos sobre la inocuidad de los alimentos. Recuperado el 15 de enero de 2020, de [https://www.who.int/features/factfiles/food\\_safety/es/](https://www.who.int/features/factfiles/food_safety/es/)
- Organización Mundial de la Salud. (2019). Inocuidad de los alimentos. Recuperado el 15 de enero de 2020, de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
- Pacheco, A. (2004). Efecto de la concentración de cultivo láctico y la acidez de corte en el tiempo de incubación y las características físicas y sensoriales del queso Cabaña. Zamorano .
- Plank, R. (1984). El empleo del frío en la industria de la alimentación. Reverté.
- Real, L. (2013). Industria láctea con mejores condiciones de producción. *Gestión Empresarial*, 36-37.
- Romero del Catilo, R., & Mestres, J. (2004). Productos lácteos: tecnología.
- Sacyl. (2020). Consejos prácticos para evitar la salmonelosis. Recuperado el 15 de enero de 2020, de <https://www.saludcastillayleon.es/es/seguridadalimentaria/consejos-practicos-evitar-salmonelosis>

- Salazar, C., Del Castillo S., (2018). Fundamentos Básicos de Estadística. Recuperado Julio, 9, 2019 de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/13720/3/Fundamentos%20B%C3%A1sicos%20de%20Estad%C3%ADstica-Libro.pdf>
- Salgado , T., & Castro, K. (2007). Importancia de las buenas prácticas de manufactura en cefeterías y restaurantes. Revista Vector, 33-44.
- Singh, P., & Heldman, D. (2009). Introducción a la ingeniería de los alimentos. Acribia.
- Schöbitz, R., Ciampi, L., & Nahuelquin, Y. (2009). Listeria monocytogenes Un peligro latente para la industria alimentaria. Agro sur.
- Tepal, J. (2015). Buenas Prácticas de Ordeño.
- Torres, X. (2018). Estudio de la producción de la industria láctea del cantón Cayambe en el período 2009-2015.
- Uribe, C., & Suarez, C. (2006). Salmonelosis no tifoidea y su transmisión a través de. Recuperado el 15 de enero de 2020, de <https://www.redalyc.org/pdf/283/28337211.pdf>
- Valencia, F., Millán, L., & Jaramillo, Y. (2008). Estimación de la vida útil fisicoquímica, sensorial e instrumental de queso crema bajo en calorías. Recuperado el 15 de enero de 2020, de [https://www.researchgate.net/publication/26576201\\_Estimacion\\_de\\_la\\_vida\\_util\\_fisicoquimica\\_sensorial\\_e\\_instrumental\\_de\\_queso\\_crema\\_bajo\\_en\\_calorias](https://www.researchgate.net/publication/26576201_Estimacion_de_la_vida_util_fisicoquimica_sensorial_e_instrumental_de_queso_crema_bajo_en_calorias)
- Wittig de Penna, E. (2001). Evaluación sensorial: una metodología actual para tecnología de alimentos.

# **ANEXOS**

### Anexo 1. Check list aplicada empresa A0001

Lista de Buenas prácticas de Manufactura aplicada a empresas de Cayambe			
Número	Buena Práctica de Manufactura	Cumple	No cumple
1	Ofrece protección contra polvo, materias extrañas, insectos, roedores, aves y otros elementos de ambiente exterior.	C	
2	La construcción es sólida y dispone de espacio suficiente para a instalación; operación y mantenimiento de los equipos.	C	
3	Las áreas interiores están divididas de acuerdo con el grado de higiene y al riesgo de contaminación.	C	
4	Las instalaciones sanitarias no tienen acceso directo a las áreas de Producción	C	
5	Se dispone de dispensador de jabón, papel higiénico, implementos para secado de manos, recipientes cerrados para secado de manos, recipientes cerrados para depósito de material usado en las instalaciones sanitarias.	C	
6	Se dispone de dispensadores de desinfectante en las áreas críticas.	C	
7	Se ha dispuesto comunicaciones o advertencias al personal sobre la obligatoriedad de lavarse las manos después de usar los sanitarios antes de reiniciar las labores de producción.	C	
8	Diseño y distribución está acorde a las operaciones a realizar.	C	

9	Las superficies y materias en contacto con el alimento no representan riesgo de contaminación.	C	
10	Se evita el uso de madera o materiales que no puedan ayudar limpiarse y desinfectarse adecuadamente o se tiene certeza que no es una fuente de contaminación.	C	
11	Los equipos y utensilios ofrecen facilidades para la limpieza, desinfección e inspección.	C	
12	Las mesas de trabajo con las que cuenta sin lisas, bordes redondeados, impermeables, inoxidable y de fácil limpieza.	C	
13	Provista e instrumentación e implementos de control adecuado.	C	
14	Se mantiene la higiene y el cuidado personal.	C	
15	El personal dispone de uniformes que permitan visualizar sus limpies, se encuentran en buen estado y limpios.	C	
16	El calzado es adecuado para el proceso productivo (cerrado e impermeable)	C	
17	El uniforme es lavable o desechable y las operaciones de lavado se realizan en un lugar apropiado.	C	
18	Se evidencia que el personal se lava las manos y desinfecta según procedimientos establecidos.	C	
19	El personal acata las normas establecidas que señalan de prohibición de fumar y consumir alimentos y bebidas.	C	
20	El personal de áreas productivas mantiene el cabello cubierto, uñas cortas, sin esmalte, sin joyas, sin maquillaje, barba o bigote cubiertos durante la jornada de trabajo.	C	

21	Las visitas y el personal administrativo ingresan a áreas de proceso con las debidas protecciones y con ropa adecuada.	C	
22	Se realiza controles de las condiciones de operación (tiempo, temperatura, humedad, actividad acuosa (AW), PH, presión, etc., cuando el proceso y naturaleza del alimento lo requiera.	C	
23	No se tiene riesgo de contaminación como agua, goteras o cualquier tipo de sustancia que salpique al alimento en el proceso.	C	
24	Existen procedimientos de producción y están disponibles.	C	
25	Se cuenta con aparatos de control en buen estado de funcionamiento.	C	
26	El tratamiento de tiempo-temperatura aplicado a la leche cruda corresponda un tratamiento de pasteurización	C	
27	¿Las personas que manipulan directamente mente el producto usan algún tipo de protector de boca y nariz?	C	
28	¿En caso de respuesta afirmativa a la pregunta anterior el protector usado tapa eficazmente boca y nariz?	C	
29	¿Las personas que manipulan directamente el producto tienen las manos limpias, uñas cortas y sin heridas visibles?	C	
30	Durante las opresiones de procesamiento del queso y mientras este se encuentra expuesto, no puede haber opresiones que se realicen al mismo tiempo y que tengan riesgo de contaminar y producto que está expuesto.	C	

## Anexo 2. Check list aplicada empresa A0002

Lista de Buenas prácticas de Manufactura aplicada a empresas de Cayambe			
Número	Buena Práctica de Manufactura	Cumple	No cumple
1	Ofrece protección contra polvo, materias extrañas, insectos, roedores, aves y otros elementos de ambiente exterior.	C	
2	La construcción es sólida y dispone de espacio suficiente para a instalación; operación y mantenimiento de los equipos.	C	
3	Las áreas interiores están divididas de acuerdo con el grado de higiene y al riesgo de contaminación.	C	
4	Las instalaciones sanitarias no tienen acceso directo a las áreas de Producción	C	
5	Se dispone de dispensador de jabón, papel higiénico, implementos para secado de manos, recipientes cerrados para secado de manos, recipientes cerrados para depósito de material usado en las instalaciones sanitarias.	C	
6	Se dispone de dispensadores de desinfectante en las áreas críticas.	C	
7	Se ha dispuesto comunicaciones o advertencias al personal sobre la obligatoriedad de lavarse las manos después de usar los sanitarios antes de reiniciar las labores de producción.	C	
8	Diseño y distribución está acorde a las operaciones a realizar.	C	

9	Las superficies y materias en contacto con el alimento no representan riesgo de contaminación.	C	
10	Se evita el uso de madera o materiales que no puedan ayudar limpiarse y desinfectarse adecuadamente o se tiene certeza que no es una fuente de contaminación.	C	
11	Los equipos y utensilios ofrecen facilidades para la limpieza, desinfección e inspección.	C	
12	Las mesas de trabajo con las que cuenta sin lisas, bordes redondeados, impermeables, inoxidable y de fácil limpieza.	C	
13	Provista e instrumentación e implementos de control adecuado.	C	
14	Se mantiene la higiene y el cuidado personal.	C	
15	El personal dispone de uniformes que permitan visualizar sus limpies, se encuentran en buen estado y limpios.	C	
16	El calzado es adecuado para el proceso productivo (cerrado e impermeable)	C	
17	El uniforme es lavable o desechable y las operaciones de lavado se realizan en un lugar apropiado.	C	
18	Se evidencia que el personal se lava las manos y desinfecta según procedimientos establecidos.	C	
19	El personal acata las normas establecidas que señalan de prohibición de fumar y consumir alimentos y bebidas.	C	
20	El personal de áreas productivas mantiene el cabello cubierto, uñas cortas, sin esmalte, sin joyas, sin maquillaje, barba o bigote cubiertos durante la jornada de trabajo.	C	

21	Las visitas y el personal administrativo ingresan a áreas de proceso con las debidas protecciones y con ropa adecuada.	C	
22	Se realiza controles de las condiciones de operación (tiempo, temperatura, humedad, actividad acuosa (AW), PH, presión, etc., cuando el proceso y naturaleza del alimento lo requiera.	C	
23	No se tiene riesgo de contaminación como agua, goteras o cualquier tipo de sustancia que salpique al alimento en el proceso.	C	
24	Existen procedimientos de producción y están disponibles.	C	
25	Se cuenta con aparatos de control en buen estado de funcionamiento.	C	
26	El tratamiento de tiempo-temperatura aplicado a la leche cruda corresponda un tratamiento de pasteurización.	C	
27	¿Las personas que manipulan directamente mente el producto usan algún tipo de protector de boca y nariz?	C	
28	¿En caso de respuesta afirmativa a la pregunta anterior el protector usado tapa eficazmente boca y nariz?	C	
29	¿Las personas que manipulan directamente el producto tienen las manos limpias, uñas cortas y sin heridas visibles?	C	
30	Durante las opresiones de procesamiento del queso y mientras este se encuentra expuesto, no puede haber opresiones que se realicen al mismo tiempo y que tengan riesgo de contaminar y producto que está expuesto.	C	

### Anexo 3. Check list aplicada empresa A0003

Lista de Buenas prácticas de Manufactura aplicada a empresas de Cayambe			
Número	Buena Práctica de Manufactura	Cumple	No cumple
1	Ofrece protección contra polvo, materias extrañas, insectos, roedores, aves y otros elementos de ambiente exterior.		NC
2	La construcción es sólida y dispone de espacio suficiente para a instalación; operación y mantenimiento de los equipos.	C	
3	Las áreas interiores están divididas de acuerdo con el grado de higiene y al riesgo de contaminación.		NC
4	Las instalaciones sanitarias no tienen acceso directo a las áreas de Producción	C	
5	Se dispone de dispensador de jabón, papel higiénico, implementos para secado de manos, recipientes cerrados para secado de manos, recipientes cerrados para depósito de material usado en las instalaciones sanitarias.		NC
6	Se dispone de dispensadores de desinfectante en las áreas críticas.		NC
7	Se ha dispuesto comunicaciones o advertencias al personal sobre la obligatoriedad de lavarse las manos después de usar los sanitarios antes de reiniciar las labores de producción.	C	

8	Diseño y distribución está acorde a las operaciones a realizar.	C	
9	Las superficies y materias en contacto con el alimento no representan riesgo de contaminación.		NC
10	Se evita el uso de madera o materiales que no puedan ayudar limpiarse y desinfectarse adecuadamente o se tiene certeza que no es una fuente de contaminación.		NC
11	Los equipos y utensilios ofrecen facilidades para la limpieza, desinfección e inspección.	C	
12	Las mesas de trabajo con las que cuenta sin lisas, bordes redondeados, impermeables, inoxidable y de fácil limpieza.	C	
13	Provista e instrumentación e implementos de control adecuado.	C	
14	Se mantiene la higiene y el cuidado personal.		NC
15	El personal dispone de uniformes que permitan visualizar sus limpies, se encuentran en buen estado y limpios.	C	
16	El calzado es adecuado para el proceso productivo (cerrado e impermeable)	C	
17	El uniforme es lavable o desechable y las operaciones de lavado se realizan en un lugar apropiado.	C	
18	Se evidencia que el personal se lava las manos y desinfecta según procedimientos establecidos.	C	
19	El personal acata las normas establecidas que señalan de prohibición de fumar y consumir alimentos y bebidas.	C	
20	El personal de áreas productivas mantiene el cabello cubierto, uñas cortas, sin esmalte, sin joyas, sin	C	

	maquillaje, barba o bigote cubiertos durante la jornada de trabajo.		
21	Las visitas y el personal administrativo ingresan a áreas de proceso con las debidas protecciones y con ropa adecuada.		NC
22	Se realiza controles de las condiciones de operación (tiempo, temperatura, humedad, actividad acuosa (AW), PH, presión, etc., cuando el proceso y naturaleza del alimento lo requiera.		NC
23	No se tiene riesgo de contaminación como agua, goteras o cualquier tipo de sustancia que salpique al alimento en el proceso.	C	
24	Existen procedimientos de producción y están disponibles.		NC
25	Se cuenta con aparatos de control en buen estado de funcionamiento.	C	
26	El tratamiento de tiempo-temperatura aplicado a la leche cruda corresponda un tratamiento de pasteurización.		NC
27	¿Las personas que manipulan directamente mente el producto usan algún tipo de protector de boca y nariz?	C	
28	¿En caso de respuesta afirmativa a la pregunta anterior el protector usado tapa eficazmente boca y nariz?	C	
29	¿Las personas que manipulan directamente el producto tienen las manos limpias, uñas cortas y sin heridas visibles?	C	
30	Durante las opresiones de procesamiento del queso y mientras este se encuentra expuesto, no puede haber opresiones que se realicen al mismo tiempo y que	C	

	tengan riesgo de contaminar y producto que está expuesto.		
--	---	--	--

#### Anexo 4. Check list aplicada empresa A0004

Lista de Buenas prácticas de Manufactura aplicada a empresas de Cayambe			
Número	Buena Práctica de Manufactura	Cumple	No cumple
1	Ofrece protección contra polvo, materias extrañas, insectos, roedores, aves y otros elementos de ambiente exterior.	C	
2	La construcción es sólida y dispone de espacio suficiente para a instalación; operación y mantenimiento de los equipos.	C	
3	Las áreas interiores están divididas de acuerdo con el grado de higiene y al riesgo de contaminación.	C	
4	Las instalaciones sanitarias no tienen acceso directo a las áreas de Producción	C	
5	Se dispone de dispensador de jabón, papel higiénico, implementos para secado de manos, recipientes cerrados para secado de manos, recipientes cerrados para depósito de material usado en las instalaciones sanitarias.	C	
6	Se dispone de dispensadores de desinfectante en las áreas críticas.	C	

7	Se ha dispuesto comunicaciones o advertencias al personal sobre la obligatoriedad de lavarse las manos después de usar los sanitarios antes de reiniciar las labores de producción.	C	
8	Diseño y distribución está acorde a las operaciones a realizar.	C	
9	Las superficies y materias en contacto con el alimento no representan riesgo de contaminación.	C	
10	Se evita el uso de madera o materiales que no puedan ayudar limpiarse y desinfectarse adecuadamente o se tiene certeza que no es una fuente de contaminación.	C	
11	Los equipos y utensilios ofrecen facilidades para la limpieza, desinfección e inspección.	C	
12	Las mesas de trabajo con las que cuenta sin lisas, bordes redondeados, impermeables, inoxidable y de fácil limpieza.	C	
13	Provista e instrumentación e implementos de control adecuado.	C	
14	Se mantiene la higiene y el cuidado personal.	C	
15	El personal dispone de uniformes que permitan visualizar sus limpies, se encuentran en buen estado y limpios.	C	
16	El calzado es adecuado para el proceso productivo (cerrado e impermeable)	C	
17	El uniforme es lavable o desechable y las operaciones de lavado se realizan en un lugar apropiado.	C	
18	Se evidencia que el personal se lava las manos y desinfecta según procedimientos establecidos.	C	

19	El personal acata las normas establecidas que señalan de prohibición de fumar y consumir alimentos y bebidas.	C	
20	El personal de áreas productivas mantiene el cabello cubierto, uñas cortas, sin esmalte, sin joyas, sin maquillaje, barba o bigote cubiertos durante la jornada de trabajo.	C	
21	Las visitas y el personal administrativo ingresan a áreas de proceso con las debidas protecciones y con ropa adecuada.	C	
22	Se realiza controles de las condiciones de operación (tiempo, temperatura, humedad, actividad acuosa (AW), PH, presión, etc., cuando el proceso y naturaleza del alimento lo requiera.	C	
23	No se tiene riesgo de contaminación como agua, goteras o cualquier tipo de sustancia que salpique al alimento en el proceso.	C	
24	Existen procedimientos de producción y están disponibles.	C	
25	Se cuenta con aparatos de control en buen estado de funcionamiento.	C	
26	El tratamiento de tiempo-temperatura aplicado a la leche cruda corresponda un tratamiento de pasteurización.	C	
27	¿Las personas que manipulan directamente mente el producto usan algún tipo de protector de boca y nariz?	C	
28	¿En caso de respuesta afirmativa a la pregunta anterior el protector usado tapa eficazmente boca y nariz?	C	

29	¿Las personas que manipulan directamente el producto tienen las manos limpias, uñas cortas y sin heridas visibles?	C	
30	Durante las opresiones de procesamiento del queso y mientras este se encuentra expuesto, no puede haber opresiones que se realicen al mismo tiempo y que tengan riesgo de contaminar y producto que está expuesto.	C	

Anexo 5. Recuento de microorganismos empresa A001 día 1 dilución 1



Anexo 6. Repetición Recuento de microorganismos empresa A001 día 1 dilución 1



Anexo 7. Recuento de microorganismos empresa A002 día 15 dilución 2



Anexo 8. Repetición Recuento de microorganismos empresa A002 día 15 dilución  
2

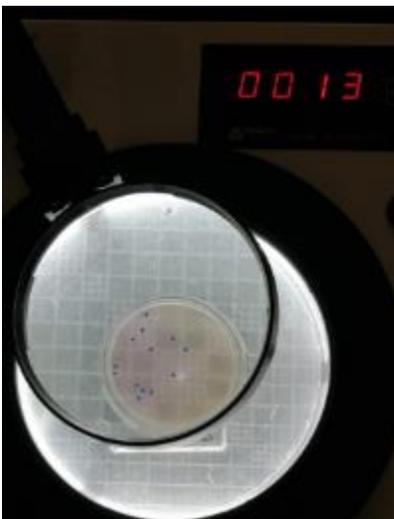


Anexo 9. Recuento de microorganismos empresa A002 día 15 dilución



Anexo 10. Repetición recuento de microorganismos empresa A004 día 15 dilución

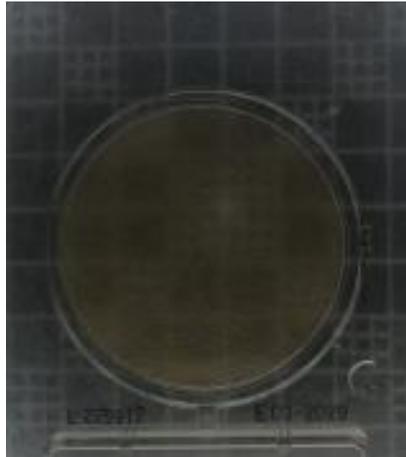
2



Anexo 11. Repetición Recuento de microorganismos empresa A003 día 15 dilución 5



Anexo 12. Placa sin recuento de microorganismos



Anexo 13. Placa con recuento incontable de microorganismos

