



***Evaluación de los riesgos físico-químicos y
microbiológicos en la producción de quesos
saborizados en la Cooperativa de producción
Agropecuaria Chone Ltda.***

José Hernán Sandoval Sánchez

2018



Evaluación de los riesgos físicos, químicos y microbiológicos en la producción de quesos saborizados en la Cooperativa de producción Agropecuaria Chone Ltda.

José Hernán Sandoval Sánchez

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DE TITULO DE
MASTER EN GESTIÓN DE LA CALIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA

Trabajo de Maestría realizada por la orientación de Phd. Susana Mendes y la
co-orientación de Mg. Rudyard Arteaga Solórzano

2018

Título: Evaluación de los riesgos físicos, químicos y microbiológicos en la producción de quesos saborizados en la Cooperativa de Producción Agropecuaria Chone Ltda.

Copyright © José Hernán Sandoval Sánchez

Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar

Instituto Politécnico de Leiria

2018

La Escuela Superior de Turismo y Tecnología del Mar y el Instituto Politécnico de Leiria tienen el derecho, perpetuo y sin límites geográficos, de archivar y publicar esta disertación / trabajo de proyecto / informe de prácticas a través de ejemplares impresos reproducidos en papel o de forma digital o por cualquier otro medio conocido o que sea inventado, y de divulgarla a través de repositorios científicos y de admitir su copia y distribución con objetivos educativos o de investigación, no comerciales, siempre que se dé crédito al autor y editor.

Agradecimientos

Mirar lejos...volar alto

Agradezco a todas las personas que me apoyaron
en la realización de este logro académico y profesional
agradezco a la Universidad Técnica de Manabí, mi Alma Mater.

Gracias Instituto Politécnico de Leiria por la oportunidad
de estudiar en tan prestigiosa Institución.

A mis coordinadores de tesis quienes me alentaron a pensar e investigar para
alcanzar la excelencia.

Gracias.....por todo

Hernán Sandoval Sánchez.

Resumen

La investigación se realizó en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Zootécnicas de la Universidad Técnica de Manabí. El objetivo de este trabajo fue evaluar los riesgos físico-químicos y microbiológicos en la producción de quesos saborizados elaborados por la planta de producción de productos lácteos de la Cooperativa Agropecuaria Chone Ltda.

Se analizaron variables físico-químicas y microbiológicas de diversos tipos de quesos como son: tipo fresco, saborizado con ají y saborizado con orégano para lo cual se utilizó un diseño completamente al azar con cinco repeticiones. Las variables estudiadas fueron: Humedad, pH, Porcentaje de acidez; en lo que respecta a los análisis microbiológicos tenemos *Enterobacterias*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* sp.

Para los análisis físico-químicos se realizó un ANOVA al 95 % de nivel de confianza y se obtuvo para la humedad 48,50%, para la acidez 0,38% y para el pH 5,97. Por otra parte, los análisis microbiológicos se determinaron usando un análisis de Componentes Principales, donde es evidente que en el primer plano el 45,6% de la variabilidad se satisface, de la misma forma en el segundo eje hay un 30,1%, en el tercer 16,4% y en la cuarta variabilidad de 3,8%; esto nos permite evidenciar que no hay oposición de las variables para que cada grupo bacteriano tenga un comportamiento diferente de acuerdo con el tiempo de almacenamiento y conservación.

Palabras claves: Humedad, acidez, pH, microbiología, quesos saborizados.

Resumo

A pesquisa foi realizada nos laboratórios da Faculdade de Zootecnia da Universidade Técnica de Manabí. O objetivo deste trabalho foi avaliar os riscos físico-químicos e microbiológicos na produção de queijos aromatizados elaborados pela planta de produção de laticínios da Cooperativa de produção Agropecuária Chone Ltda.

Variáveis físico-químicas e microbiológicas de diferentes tipos de queijos foram analisadas como: tipo fresco, aromatizado com pimentão e aromatizado com orégano, para o qual foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. As variáveis estudadas foram: umidade, pH, porcentagem de acidez; Em relação às análises microbiológicas, temos *Enterobactérias*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sp.

Para as análises físico-químicas, foi realizada uma ANOVA com nível de confiança de 95 % e 48.50% para umidade, acidez de 0,38% e pH 5,97. Por outro lado, as análises microbiológicas foram determinadas usando uma análise de Componentes Principais, onde é evidente que no primeiro plano 45.6 % da variabilidade é satisfeita, da mesma forma que no segundo eixo há 30.1%, no terceiro 16.4 % e na quarta variabilidade de 3.8 %; isso nos permite mostrar que não há oposição das variáveis para que cada grupo bacteriano tenha um comportamento diferente de acordo com o tempo de armazenamento e conservação.

Palavras-chave: Umidade, acidez, pH, microbiologia, queijos aromatizados.

Abstract

The research was carried out in the laboratories of the Faculty of Zootechnical Sciences of the Technical University of Manabí. The objective of this work was to evaluate the physical-chemical and microbiological risks in the production of flavored cheeses elaborated by the dairy production plant of Cooperativa Agropecuaria of Production Chone Ltda.

Physico-chemical and microbiological variables of different types of cheeses were analyzed such as: fresh type, flavored with chili and flavored with oregano for which a completely random design with five replications was used. The variables studied were: Humidity, pH, Percentage of acidity; Regarding microbiological analyzes, we have *Enterobacteria*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* sp.

For physico-chemical analyzes, an ANOVA at 95% confidence level was performed and 48.50% was obtained for humidity, for acidity 0.38% and for pH 5.97. On the other hand, the microbiological analyzes were determined using a Principal Components analysis, where it is evident that in the first plane 45.6% of the variability is satisfied, in the same way in the second axis there is 30.1%, in the third 16.4% and in the fourth variability of 3.8%; This allows us to show that there is no opposition of the variables so that each bacterial group has a different behavior according to the storage and conservation time.

Key words: Moisture, acidity, pH, microbiology, flavored cheeses.

Índice de Materias

OBJETIVOS	1
OBJETIVO GENERAL	1
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	2
INTRODUCCIÓN	3
EL QUESO	3
Definición y Generalidades	3
VALOR NUTRICIONAL	16
CONSUMO DE QUESO EN ECUADOR Y EN LA REGIÓN	17
Procesos de producción de los quesos saborizados en general y en estudio	18
Caracterización nutricional de los quesos saborizados en estudio ...	20
CARACTERIZACIÓN DE LA EMPRESA EN ESTUDIO	21
CARACTERIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS EN ESTUDIO	22
Humedad	22
pH	22
Acidez	23
CARACTERIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS EN ESTUDIO	23
<i>Enterobacteriaceae</i>	23
<i>Listeria monocytogenes</i>	23
<i>Escherichia coli</i>	24
<i>Staphylococcus aureus</i>	24
<i>Salmonella</i>	25
CARACTERIZACIÓN DE LOS CONDIMENTOS EN ESTUDIO	25
Ají	25
Orégano	26
METODOLOGÍA	28
MUESTREO	28
Definición y Generalidades	28
ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DE LAS MUESTRAS DE QUESO	28

Determinación de la Humedad. Método de desecación en estufa de aire caliente. NTE INEN 63.....	28
Determinación de la acidez. Método Volumétrico NTE INEN 0013:84	30
Determinación del potencial Hidrógeno (pH). Método Potenciométrico. NTE INEN 389	31
ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LAS MUESTRAS DE QUESO	32
<i>Enterobacteriaceae</i>	32
<i>Listeria monocytogenes</i>	32
<i>Escherichia coli</i>	33
<i>Staphylococcus aureus</i>	34
<i>Salmonella</i>	34
TRATAMIENTO ESTADÍSTICO	36
RESULTADOS	37
CARACTERIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS EN ESTUDIO	37
Determinación de la Humedad	37
Determinación de la acidez	38
Determinación del potencial Hidrógeno (pH)	38
CARACTERIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS EN ESTUDIO	39
Análisis de componentes principales de la presencia de <i>Enterobacterias, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes</i> y <i>Salmonella sp.</i> , en los quesos frescos y saborizados.	39
PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL IDENTIFICADOS EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DEL QUESO FRESCO	41
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	43
BIBLIOGRAFÍA	46

Índice de Figuras

Figura 1. Queso madurado _____	4
Figura 2. Queso madurado por mohos. _____	5
Figura 3. Queso no madurado. _____	5
Figura 4. Queso fresco. _____	6
Figura 5. Queso condimentado. _____	6
Figura 6. Queso cottage _____	7
Figura 7. Queso cottage crema. _____	7
Figura 8. Queso quark (quarg) _____	8
Figura 9. Queso ricotta. _____	8
Figura 10. Queso crema. _____	9
Figura 11. Queso de capas. _____	9
Figura 12. Queso duro. _____	10
Figura 13. Queso mozzarella. _____	10
Figura 14. Queso criollo. _____	11
Figura 15. Queso criollo o queso de comida. _____	11
Figura 16. Queso requesón. _____	12

Figura 17. Queso descremado. _____	12
Figura 18. Queso cuartirolo. _____	13
Figura 19. Queso de hoja. _____	13
Figura 20. Queso manaba. _____	14
Figura 21. Queso amasado lojano. _____	14
Figura 22. Queso amasado carchense. _____	15
Figura 23. Queso Andino fresco. _____	15
Figura 24. Comparativa de Valores de Exportaciones e Importaciones de Queso Fresco en Toneladas desde el 2013 hasta Agosto de 2015. _____	17
Figura 25. Diagrama de flujo de la elaboración de queso fresco. _____	19
Figura 26. Diagrama de flujo de la elaboración de queso saborizado. _____	20
Figura 27. Ubicación de la Cooperativa de Producción Agropecuaria Chone Ltda. _____	21
Figura 28. Resultados obtenidos para el porcentaje de humedad en muestras de tres tipos de queso: fresco, saborizado con ají y con orégano; gráficas con letras diferentes determinan diferencias significativas. _____	37
Figura 29. Resultados obtenidos para el porcentaje de acidez en gramos de ácido láctico en muestras de tres tipos de queso: fresco, saborizado con ají y con orégano; gráficas con letras iguales determinan que no hay diferencias significativas. _____	38

Figura 30. Resultados obtenidos para el parámetro pH en muestras de tres tipos de queso: fresco, saborizado con ají y con orégano; gráficas con letras diferentes determinan diferencias significativas. _____ 39

Figura 31. Resultados obtenidos para el parámetro pH en muestras de tres tipos de queso: fresco, saborizado con ají y con orégano;; gráficas con letras diferentes determinan diferencias significativas. _____ 39

Figura 32. Análisis de componentes principales de los diversos grupos de microorganismos considerados en el presente estudio y relacionándolos con el tiempo de vida de anaquel de los quesos fresco y saborizado. Ecoli=Escherichia coli; Coliform = Coliformes; Entero = Enterobacterias; Lst = Listeria; Salm = Salmonella; Aureus = Staphylococcus aureus; Mh-Lvd = Mohos y levaduras; Or0 = Queso saborizado con orégano 0 días; Aj0 = Queso saborizado con ají 0 días; Or30 = Queso saborizado con orégano 30 días; Or60 = Queso saborizado con orégano 60 días; Aj30 = Queso saborizado con ají 30 días; Aj60 = Queso saborizado con ají 60 días; Te0 = Queso fresco testigo 0 días; Te30 = Queso fresco testigo 30 días y Te60 = Queso fresco testigo 60 días. _____ 40

Figura 33. Gráficas de comparaciones múltiples de los tipos de queso y la presencia de Listeria monocytogenes y Escherichia coli en el presente estudio. _____ 41

Índice de Tablas

Tabla 1. Caracterización nutricional de los quesos elaborados en Cooperativa de Producción Agropecuaria Chone Ltda..... 21

Tabla 2. Comportamiento de los valores propios obtenidos a partir del ACP de los microorganismos cultivados para determinar la calidad de las muestras de queso: fresco, saborizado con ají y con orégano. 40

Tabla 3. Puntos Críticos de Control de Calidad de la evaluación de los riesgos físicos, químicos y microbiológicos en la producción de quesos saborizados en la Cooperativa Agropecuaria Chone Ltda. 41

OBJETIVOS

Objetivo general

El queso es un producto alimenticio de gran consumo a nivel mundial, cuyas propiedades nutritivas, funcionales, texturales y sensoriales son diferentes entre cada tipo. Se estiman más de 2000 variedades de queso (Gunasekaran, 2003), entre madurados, semi-madurados y frescos. No obstante en nuestro país predomina el consumo de quesos frescos, mismos que forman parte de una enorme variedad de platillos que constituyen nuestra cultura gastronómica.

En los quesos frescos, los hongos representan una forma de alteración; su crecimiento origina problemas de tipo comercial (producen olores indeseables y cambios en la textura y en el interior de los quesos, lo que se traduce en pérdida de categoría e, incluso, en el rechazo total del producto) y sanitario por la posible producción de metabolitos tóxicos. Los microorganismos contaminantes, que representan riesgo a la salud humana y que generalmente están presentes en derivados lácteos, son *Escherichia coli* O157:H7 y otros coliformes fecales, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* tipo emético, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella* sp., *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, entre otras.

Su presencia en el queso depende de la calidad y del tratamiento térmico de la leche, de la limpieza en general de la quesería, de la calidad de los cultivos, del manejo de la cuajada durante el procesamiento, de la temperatura de almacenamiento y del transporte y distribución del queso. No obstante, los alimentos también se pueden contaminar en los distintos eslabones de la cadena alimentaria, incluidos los hogares y expendios de alimentos preparados para el consumo (Sánchez, 2016).

La práctica en torno a la elaboración del queso ha sufrido importantes cambios, transformándola de un arte empírico, a una tecnología industrial con fuertes bases científicas. Razón por la cual, la comprensión de los aspectos científico-técnicos en torno a la elaboración del queso es de suma importancia para un

adecuado control de las condiciones que pudieran afectar dichas propiedades en el queso y en consecuencia su calidad y aceptación por parte del consumidor. Después de identificar algunas prácticas de manufactura y condiciones de infraestructura en la Cooperativa de Producción Agropecuaria Chone Ltda. surgió como objetivo de este trabajo evaluar los riesgos físico-químicos y microbiológicos en la producción de quesos saborizados. Así mismo, se incluye una descripción de los conceptos de elaboración de queso, principales saborizantes usados en la elaboración de quesos, propiedades físico-químicas y calidad microbiológica del producto terminado; aspectos que contribuyen en su conjunto al desarrollo de quesos saborizados de gran calidad y amplia aceptabilidad por parte del consumidor.

Objetivos específicos

En este trabajo se pretende identificar los puntos críticos de control de control en la elaboración de quesos saborizados; identificar y cuantificar la carga bacteriana de estos quesos en la planta de producción de productos lácteos de la Cooperativa de Producción Agropecuaria Chone Ltda.

- a. Evaluar los principales parámetros físico-químicos que influyen en la calidad del queso fresco elaborado con saborizantes, mediante los siguientes parámetros:
 - Análisis físico: Humedad
 - Análisis químico: pH, porcentaje de acidez

- b. Cuantificar los microorganismos causantes del deterioro de los quesos frescos saborizados elaborados en la Cooperativa de Producción Agropecuaria Chone Ltda.
 - Análisis microbiológico: *Enterobacterias*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* sp.

CAPÍTULO 1 – INTRODUCCIÓN

A. El Queso

A.1 Definición y Generalidades

La palabra queso deriva del latín “caseus”. Este es un producto fresco o madurado obtenido por drenaje del suero, tras la coagulación de la leche, nata, leche desnatada o parcialmente, grasa láctea o una combinación de estos componentes (García, 2006). El queso se considera uno de los alimentos más antiguos de conservar los principales elementos nutricionales (proteínas, grasa, calcio, fósforo y vitaminas) de la leche (Ledesma, 2007).

Desde el punto de vista fisicoquímico, el queso se define como un sistema tridimensional tipo gel, formado básicamente por la caseína integrada en un complejo caseinato fosfato cálcico, el cual por coagulación, engloba glóbulos de grasa, agua, lactosa, albúminas, globulinas, minerales, vitaminas y otras sustancias menores de la leche, las cuales permanecen adsorbidas en el sistema o se mantienen en la fase acuosa retenida (Vélez, 2009).

De acuerdo al *Codex Alimentarius* de la FAO/OMS, 2008, lo define como el producto fresco o madurado, obtenido por coagulación de la leche u otros productos lácteos (nata, leche parcialmente desnatada, nata de suero o la mezcla de varios de ellos), con separación del suero.

En Ecuador el Servicio Ecuatoriano de Normalización según norma (NTE INEN) 1528 de 2012 lo define como el producto blando, semiduro, duro y extra duro, madurado o no madurado, y que puede estar recubierto, en el que la proporción entre las proteínas de suero y la caseína no sea superior a la de la leche.

El origen del queso no es bien conocido, pero se cree que probablemente se originó en el Medio Oriente desde hace 10.000 años. Desde entonces, se han desarrollado y aplicado muchos cambios y métodos tecnológicos para la elaboración de quesos, permitiendo la aparición de la diversidad de quesos, dando espacio a la expresión peculiar y significativa de la diversidad cultural y dietética en todo el mundo (Kongo, 2016).

De acuerdo a su composición y características físicas el producto, se clasifica de acuerdo a su contenido de humedad en duros, semiduros, semiblandos y blandos y al contenido de grasa láctea en rico en grasa o magro, entero o graso, semidescremado o bajo en grasa y descremado o magro (INEN, 2012).

Así mismo, hay diversas variedades de este alimento los cuales se pueden clasificar de acuerdo al tipo de leche empleada en su elaboración, el método de coagulación, la textura, los microorganismos empleados en su fabricación y en función de la localidad de origen como se detalla a continuación:

- **Queso madurado**

Se entiende por queso sometido a maduración el queso que no está listo para el consumo poco después de la fabricación, sino que debe mantenerse durante cierto tiempo a una temperatura y en unas condiciones tales que se produzcan los cambios bioquímicos y físicos necesarios y característicos del queso en cuestión (INEN, 2012) (Figura 1).



Figura 1. Queso madurado

- **Queso madurado por mohos**

El queso madurado por mohos es un producto curado en el que la maduración se ha producido como consecuencia del desarrollo característico de mohos por todo el interior y sobre la superficie del queso (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012) (Figura 2).



Figura 2. Queso madurado por mohos.

- **Queso no madurado**

Se entiende por queso no madurado el queso que está listo para el consumo poco después de su fabricación (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012) (Figura 3)



Figura 3. Queso no madurado.

- **Queso fresco**

Este producto es no madurado (Figura 4), ni escaldado de textura relativamente firme, levemente granular, preparado con leche entera, semidescremada, coagulada con enzimas y ácidos orgánicos, sin cultivos lácticos. (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012).



Figura 4. Queso fresco.

- **Queso condimentado**

Como vemos en la figura 5, a este producto se le han agregado condimentos y/o saborizantes naturales o artificiales autorizados (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012).



Figura 5. Queso condimentado.

- **Queso cottage**

La figura 6 muestra un producto no madurado, escaldado o no, de alta humedad, de textura blanda, granular o cremosa, preparado con leche descremada, coagulada con enzimas y cultivos lácticos, cuyo contenido de grasa láctea es inferior a 2% (m/m) (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012).



Figura 6. Queso cottage

- **Queso cottage crema**

Es el queso cottage al que se le ha agregado crema, de manera que su contenido de grasa láctea es igual o mayor de 4% (m/m) (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012) (Figura 7).



Figura 7. Queso cottage crema.

- **Queso quark (quarg)**

Es el queso no madurado ni escaldado, alto en humedad, de textura blanda o suave, preparado con leche descremada y concentrada, cuajada con enzimas y cultivos lácticos y separados mecánicamente del suero, cuyo contenido de grasa láctea es variable. (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012). (Figura 8).



Figura 8. Queso quark (quarg)

- **Queso ricotta**

Es el queso de proteínas de suero no madurado, escaldado, alto en humedad, de textura granular blanda o suave, (Figura 9), preparado con suero de leche o suero de queso con leche, cuajada por la acción del calor y la adición de cultivos lácticos y ácidos orgánicos (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012).



Figura 9. Queso ricotta.

- **Queso crema**

Es el queso no madurado ni escaldado (Figura 10), con un contenido relativamente alto de grasa, de textura homogénea, cremosa, no granulada, preparado solamente con crema o mezclada con leche, cuajada con cultivos lácticos y opcionales se permite el uso de enzimas adicionales en los cultivos lácticos (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012).



Figura 10. Queso crema.

- **Queso de capas**

De acuerdo, a la figura 11, este tipo de quesos son de textura relativamente firme, no granular, levemente elástica preparado con leche entera, cuajada con enzimas y/o ácidos orgánicos generalmente sin cultivos lácticos (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012).



Figura 11. Queso de capas.

- **Queso duro**

Es el queso no madurado, escaldado o no, prensado, de textura dura desmenuzable, preparado con leche entera, semidescremada o descremada, cuajada con cultivos lácticos y enzimas, cuyo contenido de grasa es variable dependiendo de la leche empleada en su elaboración y tiene un contenido relativamente bajo de humedad (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012) (Figura, 12).



Figura 12. Queso duro.

- **Queso mozzarella**

Es el queso no madurado, escaldado, moldeado, de textura suave filamentosa, (Figura, 13), cuya cuajada puede o no ser blanqueada y estirada, preparado de leche entera, cuajada con cultivos lácticos, enzimas y/o ácidos orgánicos o inorgánicos (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012).



Figura 13. Queso mozzarella.

- **Quesillo criollo**

Es el queso no madurado, escaldado, alto en humedad con textura blanda suave y elástica fabricado con leche, acidificada con ácido láctico, cuajado generalmente con cuajo líquido (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012) (Figura, 14).



Figura 14. Queso criollo.

- **Queso criollo o queso de comida**

En la figura 15, observamos que este producto es el queso no madurado, preparado con leche, adicionado de cuajo y de textura homogénea, con desuerado natural (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012).



Figura 15. Queso criollo o queso de comida.

- **Queso requesón**

Es el producto obtenido por la concentración de suero y el moldeo del suero concentrado, (Figura,16), con o sin la adición de leche y grasa de leche, cuyo contenido de grasa es variable (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012).



Figura 16. Queso requesón.

- **Queso Descremado**

Es el queso no madurado, con un contenido relativamente bajo en grasa de textura homogénea preparado con leche descremada (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012) (Figura, 17).



Figura 17. Queso descremado.

- **Queso Cuartirolo**

Es un queso fresco tradicional (Figura, 18), de corteza lisa y suave con aroma y sabor característico (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012).



Figura 18. Queso cuartirolo.

- **Queso de Hoja**

Es el queso no madurado obtenido a partir de queso criollo acidificado de forma natural en presencia de bacterias mesofilas nativas de Ecuador no patógenas (Figura, 19), sometido a calentamiento previo al hilado, la característica es su envoltura en hoja de achira (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012).



Figura 19. Queso de hoja.

- **Queso Manaba**

Es el queso no madurado obtenido a partir de leche, acidificado de forma natural en presencia de bacterias mesófilas nativas de la zona manabita, salado con sal en grano y colocado en moldes sin fondo para su prensado (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012) (Figura, 20).



Figura 20. Queso manaba.

- **Queso amasado lojano**

Es el queso no madurado elaborado a partir de queso criollo salado y acidificado naturalmente, secado, molido y nuevamente prensado; la característica es su envoltura en hoja de achira (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012) (Figura, 21).



Figura 21. Queso amasado lojano.

- **Queso amasado carchense**

Es el queso no madurado obtenido de cuajada no cortada, de acidificación natural, molido, amasado, moldeado en moldes perforados y espolvoreado sal de consumo humano; desmenuzado manualmente, moldeado y prensado (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012) (Figura, 22).



Figura 22. Queso amasado carchense.

- **Queso Andino fresco**

Es un queso no madurado, el cuerpo presenta un color que varía de blanco a crema y tiene una textura blanda (al presionarse con el dedo pulgar) que se puede cortar (INEN, Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528, 2012) (Figura 23).



Figura 23. Queso Andino fresco.

B. Valor nutricional

El queso tiene un alto valor nutritivo con gran concentración de proteínas, grasas, agua, sales minerales y vitaminas. Constituye una interesante fuente de calorías y contribuye a la remineralización del organismo puesto que contiene abundante cantidad de calcio y fósforo. Sin embargo, el nivel de calcio varía en función del contenido en agua y del tipo de fabricación (Juarez, 1995).

Su composición físico - química se caracteriza por un contenido de humedad entre 46 y 67% y entre 14 y 29% de grasa, 15 a 21% de proteína y 1 a 3% de sal. Puede ser producido con todo, parcialmente desnatado, o leche descremada y tiene una vida útil corta. Se forma en una forma cilíndrica, y su peso varía ampliamente, desde 200 g a 1 kg. La textura es suave y cremosa, y su color es blanco brillante (Córdova, Yescas, & Ortiz-Estrada, 2016).

Según el sistema de fabricación, los quesos contienen entre el 10 y 30% de proteínas. Estas proteínas proceden de la caseína modificada, una parte importante se encuentra degradada y solubilizada en oligopéptidos y aminoácidos. De hecho como consecuencia de esta proteólisis, las proteínas del queso son más fácilmente digestibles (Dubach, 1980).

Al igual que en el calcio de la leche, el calcio de los quesos es bien asimilado por el organismo humano, debido a las proporciones relativas de calcio y fósforo que aporta y a la presencia concomitante de proteínas que favorecen la absorción intestinal. El contenido en aminoácidos esenciales de las proteínas de la leche y de los quesos confiere a estos productos un valor nutricional extremadamente elevado (Dubach, 1980).

Respecto a la grasa que contiene un queso, no solamente suministra calorías sino que es también portador de vitaminas liposolubles esencialmente vitamina A y D (Dubach, 1980).

Los lípidos de la leche, triglicéridos, fosfoglicéridos, esfingósidos se encuentran en el queso en forma emulsionada, lo cual los hace más digestibles (Dubach, 1980).

En cuanto a la consistencia del queso, depende aparte de la grasa, de su contenido de agua. Esta sirve además de disolvente y como suero es portadora de sustancias minerales, de vitaminas hidrosolubles y de ácido láctico (Revilla, 1983).

Las vitaminas del grupo B son en gran parte eliminadas con el lactosuero a lo largo del desuerado quedando retenidos únicamente el 25% en la cuajada. La vitamina C es totalmente eliminada (Dubach, 1980).

C. Consumo de queso en Ecuador y en la región

La industria láctea ecuatoriana procesa 5,8 millones de litros al día, según datos del Centro de la Industria Láctea (CIL). De esos, más de un tercio se destina a la elaboración de queso. Le sigue la leche en funda, de cartón y otros. Las ventas de la industria quesera crecieron 3,4 veces entre el 2005 y el 2014, al pasar de USD 71,4 millones a 243,1 millones en ese período. En el país existen 31 empresas dedicadas a la producción de lácteos, según el último censo económico del 2010. En algunas empresas la producción de quesos es más importante que en otras, siendo en algunos de los casos el 80% de su producción, la mayoría de esta producción es queso tipo maduro y semimaduro (LIDERES, 2015).

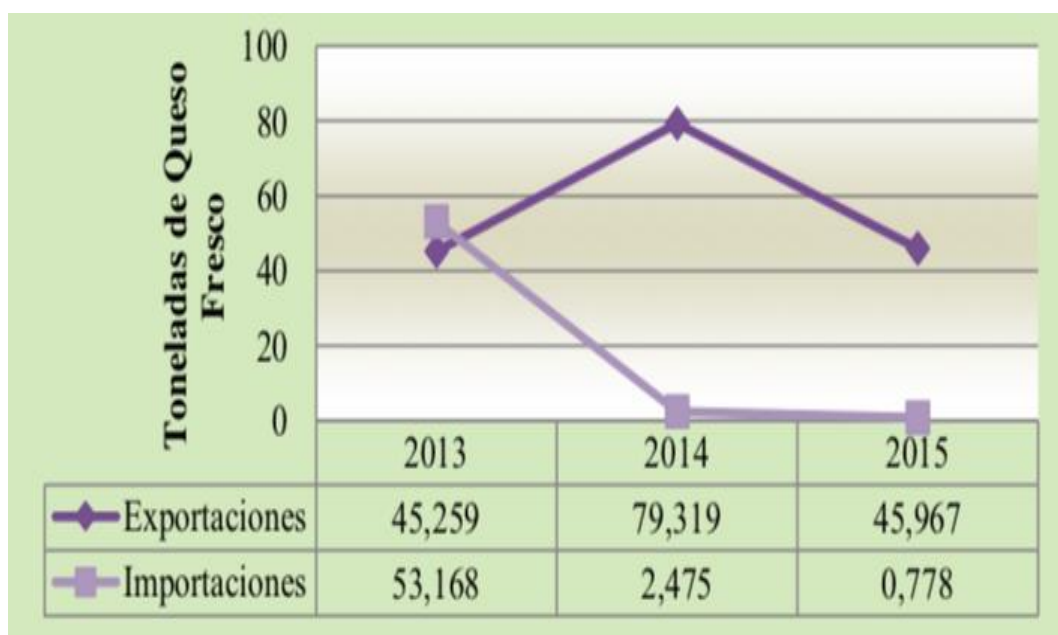


Figura 24. Comparativa de Valores de Exportaciones e Importaciones de Queso Fresco en Toneladas desde el 2013 hasta Agosto de 2015.

Según la revista de emprendimiento LIDERES, (2015); ocho de cada diez ecuatorianos dicen que compran queso fresco, le sigue en preferencia la mozzarella, queso crema, maduro, semimaduro y el queso de cabra. El queso fresco está entre los hábitos de consumo del ecuatoriano gracias a su tradición y a su precio. Pero el queso maduro, que en el país tiene como mínimo seis meses de maduración, gana adeptos, aunque la tradición de elaborar quesos maduros surgió hace 50 años, con maestros queseros como Oskar Purtschert. A partir de los años noventa cuando comenzó a apreciarse el consumo de queso conservado, la población se definió por un consumo del 80% de queso semimaduro, 15% maduro y 5% queso fresco LIDERES, (2015). En general, hoy en día los quesos más buscados y apetecidos, son los quesos de sabores en especial los quesos con pesto, con rosas, con orégano, laurel y otras especias.

En los autoservicios y delicatessen de las ciudades principales de Ecuador, se pueden encontrar quesos frescos y quesos de cabra importados como también los elaborados por industrias nacionales. En cuanto a las variedades preferidas y más consumidas tenemos el queso maduro tipo manchego “Montecaprino” en una presentación de 300 gr. cuyo precio comercial en autoservicios y delicatessen es de USD 6.69. También el queso fresco denominado Roulé de Cabra cuyo precio y presentación es de USD 3.13 por 160 gr. Por otra parte en ciertas regiones del país sobre todo en la sierra podemos evidenciar el consumo de variedades de queso como

- Queso crema natural 125 g. USD 2.00
- Queso crema con 7 hierbas y ajo 125 g. USD 2.20
- Cabrichos: Surtido de 4 porciones individuales de queso crema con cebollín, pimienta, pimienta y ajonjolí tostado. 100 g. USD 2.20.
- Requesón: 250 g. USD 3.20.

C.1 Procesos de producción de los quesos saborizados en general y en estudio

El proceso de elaboración del queso es bastante simple (Figura 25), no obstante involucra fenómenos físicos y químicos muy complejos. Se trata esencialmente de un proceso de concentración, a partir de la coagulación de la proteína

mayoritaria de la leche (caseína) por la acción enzimática (cuajo) u otro coagulante de tipo ácido (comúnmente ácido láctico) (Johnson, 2011).

El proceso de producción del queso está determinado para una producción de 50 litros de leche y se debe tomar en cuenta que la leche nunca debe romper el sistema de frío para no pierda su valor nutricional ni su calidad microbiológica, todos los cálculos referentes a la producción de quesos se realizan con la leche es en masa (Silva, 2008).

Una vez obtenido el producto, se debe asegurar la calidad y estabilidad del mismo, evaluándolo mediante el uso de indicadores entre los cuales están los fisicoquímicos: en los que constan la humedad, pH, actividad de agua (a_w) y los microbiológicos que son los que permiten identificar la existencia de patógenos ya sea por condiciones inadecuadas de elaboración o manipulación en los que pudieran estar presentes en alimentos obtenidos al final del procesamiento como el queso (Ajila, 2017).

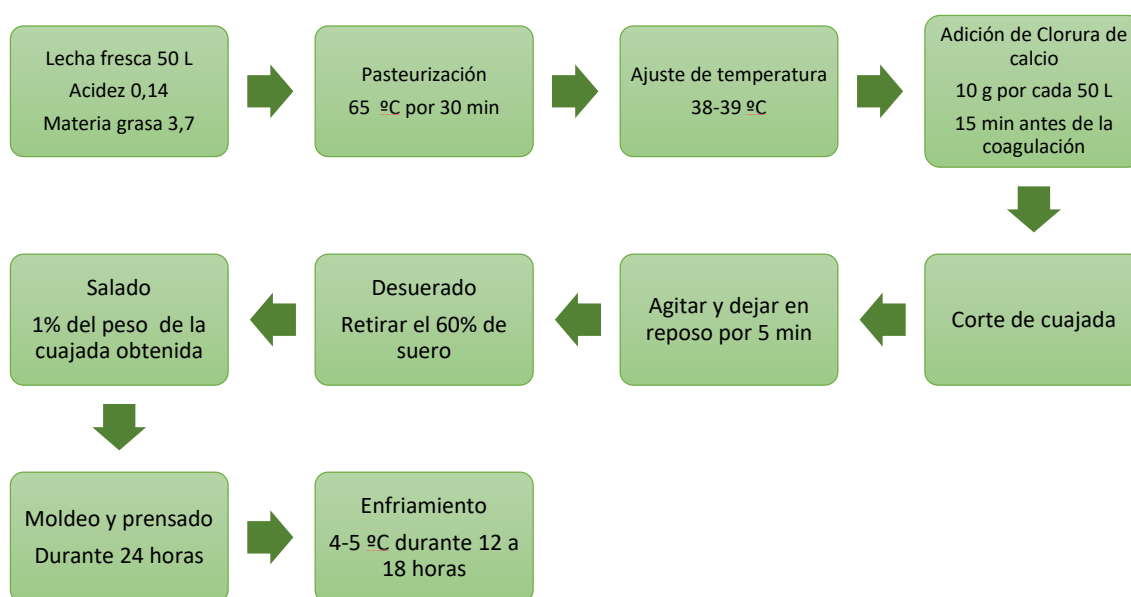


Figura 25. Diagrama de flujo de la elaboración de queso fresco.

En lo que respecta a los quesos saborizados las operaciones que se aplican para la obtención de un sabor generalmente involucran que en el proceso de salado del producto se involucre la adición de los aderezos (Figura 26), para de esta

forma lograr obtener los sabores deseados. Antes de dicho paso, se debe considerar los siguientes aspectos adicionales:

- Picar finamente el ingrediente deseado: pimienta, ají, orégano, ajo, cebolla entre otros. Agregar el equivalente de media o una cucharada por libra de queso fresco.
- Freír o cocinar el condimento y dejarlo enfriar.
- Moler o amasar la cuajada mezclando el condimento o ingrediente en un molino manual y recibir el queso molido en una bandeja plástica o de acero inoxidable.

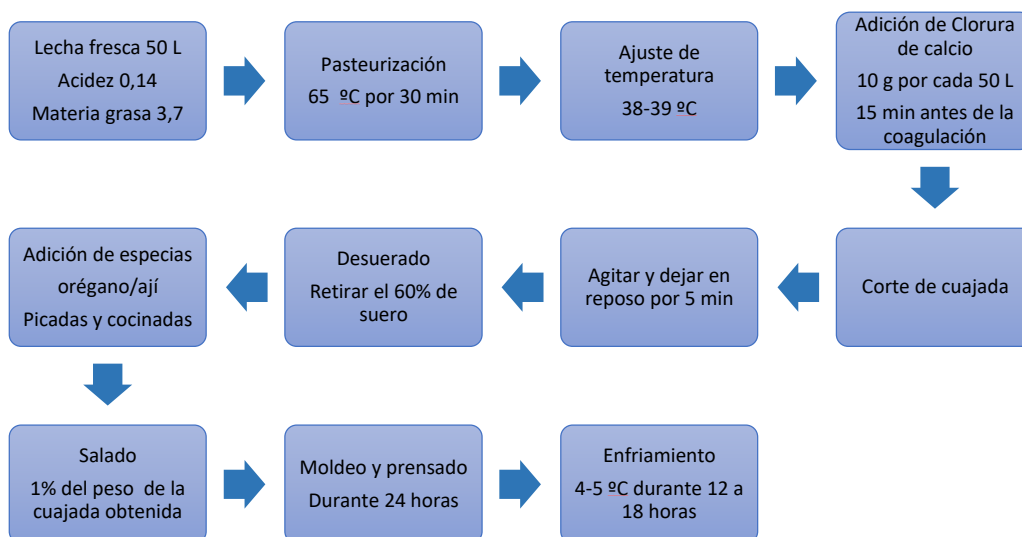


Figura 26. Diagrama de flujo de la elaboración de queso saborizado.

C.2 Caracterización nutricional de los quesos saborizados en estudio

El queso comparte casi las mismas propiedades nutricionales con la leche; a excepción de la lactosa, los otros componentes se encuentran más concentrados (Tabla 1). Además de brindar un excelente aporte de proteínas de alto valor biológico, el queso se destaca por ser una fuente importante de calcio y fósforo (García-Islas, 2006). Con este criterio la Cooperativa de Producción agropecuaria Chone Ltda., ha realizado el análisis proximal de sus productos

encontrando que los mismos se hallan dentro de los límites permitidos por la Normativa NTE-INEN 1528, los cuales son:

Tabla 1. Caracterización nutricional de los quesos elaborados en Cooperativa de Producción Agropecuaria Chone Ltda.

Tipo de queso	Parámetros nutricionales (%)							
	Proteína	Grasa	Ceniza	Lactosa	Calcio	Fosforo	pH	Humedad
Fresco	18,6	19,2	0,5	5,2	--	--	6,3	48
Saborizado	18,1	23,8	0,8	2,8	--	--	6,1	46,5

D. Caracterización de la empresa en estudio

La Cooperativa de Producción Agropecuaria Chone Ltda., fue constituida un 24 de noviembre de 1966, y aprobada mediante Acuerdo Ministerial No 7374, se encuentra ubicada en la Avenida Eloy Alfaro, Kilómetro 1 ½ de la vía Chone Portoviejo; de la Provincia de Manabí, República del Ecuador.



Figura 27. Ubicación de la Cooperativa de Producción Agropecuaria Chone Ltda.

Desde entonces, la Cooperativa ha tenido un avance progresivo, donde cada uno de los directorios han desarrollado algunos programas en lo que tiene que ver a equipos, implementos y a la construcción de la sede social, donde

actualmente desarrolla sus labores y cada año se celebra la Feria de la Producción Agropecuaria, como parte del desarrollo social, no solo de la Institución, sino también de Chone.

La Cooperativa ha implementado una planta pasteurizadora de leche, que ha sido financiada por el Ministerio de Inclusión Económica y Social, por el Ministerio de Agricultura y Ganadería a través del proyecto Cadars y con recursos propios, en donde se procesan los derivados de la leche como: queso pasteurizado, yogurt, leche chocolatada, entre otros; con costos muchos menores que en el mercado y con una excelente calidad, con lo que se le está brindando a las familias ecuatorianas, un alimento nutritivo a poco precio.

La cooperativa de producción agropecuaria Chone Ltda., en su iniciativa pretende elaborar quesos saborizados. Este será producido a partir de leche entera pasteurizada sintetizando, el queso fresco saborizado como derivado lácteo. Con estos indicios se evidencia la necesidad de realizar un estudio de control de calidad de los quesos elaborados dentro de esta organización con el afán de que estos quesos procesados no se constituyan en una amenaza para la Seguridad Alimentaria.

E. Caracterización de los parámetros físico-químicos en estudio

E.1 Humedad

La pérdida de humedad, que al provocar una disminución de la hidratación de las proteínas conduce a una mayor interacción de las mismas provocando el aumento de la firmeza de la matriz proteica (Walstra, 1990).

E.2 pH

Es uno de los parámetros que afecta sobre todo las propiedades texturales del queso, debido a su efecto sobre la red de proteínas. Un pH cercano al punto isoeléctrico provoca fuertes fuerzas iónicas e hidrófobas, que resultan en una red de caseína compacta típica de los quesos duros, mientras que en el caso de un pH más alto las caseínas presentan una carga negativa, lo que genera

repulsión entre los agregados proteicos, generándose un queso con mayor humedad, más elástico y menos compacto (Lu, 2008).

En los quesos frescos, la elevada humedad y el bajo pH, son condiciones que afectan notoriamente la textura y sabor durante la conservación, de forma que una excesiva proteólisis podría ocasionar defectos como una textura excesivamente blanda y un sabor amargo (Fox F. y., 1996).

E.3 Acidez

La acidez, en el queso es otro factor que no solo tiene incidencia sobre el sabor, sino también directamente en los cambios que experimenta la red de proteína (cuajada) del queso, teniendo esta una correlación directa en los fenómenos de sinéresis (es decir; a mayor acidez, mayor sinéresis) y textura final (Pinho *et al.*, 2004). Además de la acidez, la sinéresis está afectada también por circunstancias propias del proceso de elaboración y por la presencia de calcio libre, el cual provoca la unión de la caseína en la red proteica de la cuajada (Walstra, 1990).

F. Caracterización de los parámetros microbiológicos en estudio

F.1 *Enterobacteriaceae*

Familia de microorganismos, cuyos miembros son bacilos Gram negativos móviles por flagelos periticos o inmóviles, capsulados o no, no esporulados, aerobios y anaerobios facultativos; fermentan la glucosa generalmente con producción de gas, reducen los nitratos a nitritos; son catalasa positivos, excepto un serotipo de *Shigella*; son oxidasa negativos, comensales, saprofitos, o patógenos intestinales (INEN, 1998).

F.2 *Listeria monocytogenes*

Son bacilos gram positivos, no esporulados, no capsulados, no ramificados, casi cocoides, aislados en cadenas cortas, aerobio-anaerobios facultativos. Por su presencia cocobacilar y por formar a veces cadenas cortas, pueden ser confundidos con estreptococos, así como con corinebacterias cuando presentan su forma bacilar, aislados o en pares. Son microorganismos móviles de 1 a 5

flagelos peritricos, los cuales se generan mejor a temperaturas de 25 °C, siendo su motilidad mayor a temperatura ambiente que por incubación a 36-37 °C, ya que a estas temperaturas son aflagelados o tienen sólo un flagelo y aparecen como inmóviles. Son catalasa positiva, oxidasa y ureasa negativas, y β hemolíticos en agar sangre. Se le considera un patógeno psicrótrofo, es decir, capaz de desarrollarse a temperaturas de refrigeración, lo cual le diferencia de bacterias patógenas como *Salmonella* o *Staphylococcus aureus*, que son inhibidas en su crecimiento a bajas temperaturas (Schöbitz, 2009).

F.3 *Escherichia coli*

Es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, no formador de esporas que está presente en el intestino de los animales y del hombre, así como también en suelos. Fue inicialmente descrito por Theodor Escherich en 1885 con el nombre de *Bacterium coli*, tras aislarlo a partir de muestras fecales procedentes de niños con enteritis. *Escherichia coli* es considerado como un miembro fundamental de la flora facultativa normal del intestino y juega un papel importante en el mantenimiento de su fisiología, ya que tiene la útil función en el cuerpo humano de suprimir el crecimiento de peligrosas bacterias y contribuir a la síntesis de un apreciable volumen de vitaminas.

E. coli se ha convertido en la actualidad, en uno de los tipos de bacteria enteropatógena de mayor preocupación en la industria alimenticia, debido a que se le ha catalogado como uno de los principales agentes causales de epidemias por contaminación de alimentos, provocando en el humano, severos trastornos gastrointestinales, principalmente en niños y ancianos (FENAP, 1996)

F.4 *Staphylococcus aureus*

Especie bacteriana perteneciente a la familia *Micrococcaceae* y al género *Staphylococcus*, cuyos miembros tienen la forma de cocos que generalmente se agrupan formando racimos, inmóviles, Gram positivos, aerobios y anaerobios facultativos, temperatura óptima 37 °C. Producen un pigmento amarillo dorado, son halotolerantes. Poseen las enzimas coagulasa, fosfatasa y desoxirribonucleasa que le distinguen de otros estafilococos. Producen exotoxinas: hemolisina y enterotoxina (INEN, 1998).

F.5 *Salmonella*

Género perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, está integrado por microorganismos que forman colonias típicas sobre medios selectivos sólidos y poseen características bioquímicas y serológicas definidas. Generalmente son móviles, Gram negativas, fermentan la glucosa con formación de gas y no fermentan la lactosa (INEN, 1996).

G. Caracterización de los condimentos en estudio

G.1 Ají

Históricamente se asocia el ají con el viaje de Colón a América. Cristóbal Colón recibe el crédito por haber introducido el ají a Europa y consecuentemente a África y Asia. En su primer viaje él encontró una planta cuya fruta tenía el picante de la pimienta, Colón lo llamó pimienta roja porque las plantas tenían los frutos rojos.

Los ajíes del género *Capsicum*, son una fuente importante de nutrientes; contienen gran cantidad de vitamina A más que cualquier otra variedad de planta comestible, además de ser una buena fuente proveedora de vitamina B y C, hierro, tiamina, niacina, potasio, magnesio y rivotflavina.

Para las personas que se cuidan de ciertos alimentos, el ají está libre de colesterol y grasas saturadas, es recomendable también para las dietas bajas en sodio y altas en fibra. Comer ají incrementa el metabolismo, el ají ocupa el primer lugar de importancia dentro de las hortalizas que se cultivan en nuestro país y conjuntamente con el ajo y la cebolla son los más consumidos como condimentos. El ají es utilizado como condimento dentro de la alimentación humana, y en las industrias farmacéuticas y de alimentación para animales por sus múltiples beneficios, tales como, mejorar el funcionamiento del tracto digestivo, estimulante de defensas, actúa como reforzante de antibióticos, tiene efecto bactericida y como fuente de pigmentación (Alvarez-Parrilla, 2011).

G.2 Orégano

El orégano, (*Origanum vulgare*), es una herbácea perenne aromática del género *Origanum*, muy utilizada en la cocina mediterránea. Son las hojas de esta planta las que se utilizan como condimento tanto secas como frescas, aunque secas poseen mucho más sabor y aroma. Varias especies del género *Origanum* son nativas de la zona mediterránea y todas ellas son tratadas como especia. La influencia del clima, la estación y el suelo afectan en mayor medida la composición del aceite esencial que contiene que la diferencia entre especies. Las especies más importantes son:

- *Origanum vulgare*, Europa
- *Origanum heracleoticum*, Italia, Península Balcánica y Asia occidental.

Así mismo, posee propiedades que han sido ampliamente estudiadas, siendo las más importantes su actividad antioxidante, antimicrobiana y, en estudios bastante primarios, antitumoral, antiséptica y también se la considera tónica y digestiva (Asensio, 2013). Esta planta es muy aromática y de sabor ligeramente amargo, el orégano de buena calidad puede llegar a entumecer la lengua, sin embargo, las variedades cultivares que han sido adaptadas a los climas más fríos, a menudo poseen un sabor menos intenso.

Es el ingrediente imprescindible de la cocina italiana, donde es utilizado para la salsa de tomate, las verduras fritas y la carne a la brasa y, por supuesto, la pizza. Las cocinas de otros países mediterráneos utilizan esta especia en menor medida, aunque es de relativa importancia en la española, francesa y griega. En México se utiliza para condimentar platillos como el menudo (Economou, 2011).

En general, el orégano tiene hasta 20 veces más contenido en antioxidantes que las demás hierbas estudiadas. En un cálculo del peso por gramo, el orégano y otras hierbas de la familia han superado a la mayoría de frutas y verduras en su acción antioxidante. El orégano tiene 42 veces más antioxidantes que las manzanas, 30 veces más que las patatas, 12 veces más que las naranjas y 4 veces más que los arándanos (Asensio, 2013).

Así mismo, se han llevado a cabo muchas investigaciones sobre el aceite de orégano, descubriéndose que es un tratamiento efectivo para dolencias como la indigestión, la candidiasis (producidas por un hongo del tipo de las levaduras), diarreas, tensión nerviosa, picaduras de insectos, dolor de dientes, dolor de oídos, reumatismo y bronquitis (principalmente por sus efectos antiespasmódicos), entre otros desórdenes (Azizi, 2009).

CAPÍTULO 2 – METODOLOGÍA

A. Muestreo

A.1 Definición y Generalidades

El universo de la muestra estuvo constituido por quesos frescos elaborados industrialmente por la Cooperativa Agropecuaria Chone Ltda., con muestras de queso elaboradas entre los meses de noviembre 2017 – marzo 2018; de forma aleatoria. El tamaño de la muestra estuvo constituida originalmente por 3 unidades de 500 g de queso por cada criterio de tiempo a considerar en este estudio (0, 30 y 60 días de elaboración). Las muestras fueron tomadas con los implementos o utensilios (cuchillos) propios de la planta y se introdujeron en forma aséptica, en una bolsa de cierre de presión (Ziploc), en la parte externa de la bolsa se rotulo con información necesaria para identificar la muestra, para luego ser transportadas en una caja isotérmica (cooler) provistas de refrigerantes (5 °C) al laboratorio de la Facultad de Ciencias Zootécnicas de la ciudad de Chone, para los posteriores análisis físico-químicos y microbiológicos determinados por la Normativa Técnica Ecuatoriana.

B. Análisis físico-químico de las muestras de queso

B.1 Determinación de la Humedad. Método de desecación en estufa de aire caliente. NTE INEN 63.

- **Principio**

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

- **Preparación de la muestra**

Si la muestra corresponde a queso blando o semiduro, cortarla en trozos de forma aproximadamente cúbica con 3 mm a 5 mm de lado y mezclar los trozos obtenidos.

- **Procedimiento**

La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada

Colocar la cápsula de porcelana durante una hora en la estufa a $103^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ y pesarlo con aproximación a mg.

Transferir rápidamente a la cápsula aproximadamente 3 g de muestra y pesar nuevamente con aproximación a mg.

Colocar el conjunto en la estufa a $103^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ y mantenerlo allí durante 3 horas.

Enfriar en el desecador y pesarlo con aproximación a mg. Repetir el calentamiento por periodos de 30 min, enfriando y pesando hasta que la diferencia entre dos pesadas consecutivas no sea mayor de 2 mg.

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

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

$$\% \text{ Humedad} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} \times 100$$

Donde:

H = Contenido de humedad, en porcentaje de masa m = masa de la cápsula

m₁ = masa de la cápsula con muestra en g.

m₂ = masa de la cápsula con residuo seco en g.

B.2 Determinación de la acidez. Método Volumétrico NTE INEN 0013:84

- **Principio**

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

- **Preparación de la Muestra**

Se toman 10 gramos de queso fresco finamente molidos. Se coloca 100mL de agua destilada a 40°C. La mezcla se agita vigorosamente. Se filtra la solución y con una pipeta se toman 50 ml del filtrado. Esta cantidad corresponde a 5 g de la muestra. (Meyer, *et al.* 1982).

- **Procedimiento**

La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada. Lavar cuidadosamente y secar el matraz Erlenmeyer en la estufa a $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 30 min. Dejar enfriar en el desecador y pesar con aproximación al 0,1mg.

Invertir, lentamente tres o cuatro veces el matraz donde se encuentra la muestra preparada. Agregar 2 ml de solución indicadora de fenolftaleína.

Agregar, lentamente y con agitación, la solución 0,1 N de hidróxido de sodio, justamente hasta conseguir un color rosado persistente.

Continuar agregando la solución hasta que el color rosado persista durante 30 s. Leer en la bureta el volumen de solución empleada, con aproximación a 0,05 ml.

La acidez se calcula mediante la ecuación siguiente:

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

Donde:

A = Acidez titulable, en porcentaje de ácido láctico

V = Volumen de la solución de hidróxido de sodio empleado en la titulación en cc

N = Normalidad de la solución de hidróxido de sodio

m = peso de la muestra en gramos

B.3 Determinación del potencial Hidrógeno (pH). Método Potenciométrico. NTE INEN 389

- **Principio**

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

- **Preparación de la Muestra**

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

- **Procedimiento**

La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada

Colocar en un vaso de precipitación aproximadamente 10 g de la muestra preparada, añadir 100mL de agua destilada (recientemente hervida y enfriada) y agitar suavemente.

Si existen partículas en suspensión, dejar en reposo el recipiente para que el líquido se decante.

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

Para la medición del pH, las muestras fueron cortadas (2 g cada una, rodajas finas (0,1 a 0,2 mm) de la superficie del queso paralela a la superficie de corte usando un Cuchillo, y sumergidas en 30 ml de agua destilada (DDW). Se homogenizaron durante 15 segundos usando un mezclador Osterizer de 12 velocidades 450 W, Sunbeam-Oster, Boca Ratón, FL, EE.UU. (Yildiz, 2016).

C. Análisis microbiológico de las muestras de queso

C.1 *Enterobacteriaceae*

Realizar las diluciones del alimento de acuerdo a las indicaciones dadas.

Sembrar en profundidad 1ml de las diluciones seleccionadas.

Agregar el Agar fundido VRB recientemente preparado y temperado a 45 ± 2 °C. La adición del medio de cultivo no debe pasar más de quince minutos a partir de la preparación de la primera dilución.

Delicadamente mezclar el inóculo de siembra con el medio de cultivo imprimiendo a la placa movimientos de vaivén, cinco veces en una dirección; hacerla girar en sentido de las agujas del reloj cinco veces. Repetir este proceso pero en sentido contrario.

Dejar reposar las placas para que solidifique el agar, luego verter en la superficie una capa sellante.

Dejar solidificar, invertir las cajas e incubar a 35°C, durante 24-48 horas. Pasado el tiempo de incubación, seleccionar las placas que presenten 30-150 colonias. Calcular el recuento de U.F.C.

C.2 *Listeria monocytogenes*

Colocar la placa petrifilm en una superficie plana. Levantar el film superior. Colocar la pipeta automática en forma perpendicular a la placa petrifilm, pipetear 3000 µL de la muestra en el centro del film inferior.

Bajar el film superior evitando introducir burbujas de aire.

Colocar el aplicador para alta sensibilidad en el film superior sobre el inóculo. Distribuir la muestra ejerciendo una ligera presión sobre el mango del aplicador. No girar ni deslizar el aplicador. Levantar el aplicador. Esperar de 2 a 5 minutos para que el gel solidifique.

Incubar placas caras arriba en pilas de hasta 10 placas. El tiempo de incubación y temperatura establecidos 37 ± 1 °C a 24 horas.

Las placas petrifilm pueden leerse con un contador de colonias standard u otra lente de aumento iluminada.

C.3 *Escherichia coli*

Realizar las diluciones del alimento de acuerdo a las indicaciones dadas.

Sembrar en profundidad 1mL de las diluciones seleccionadas.

Agregar el Agar fundido VRB. Recientemente preparado y temperado a 45 ± 2 °C. La adición del medio de cultivo no debe pasar más de quince minutos a partir de la preparación de la primera dilución.

Delicadamente mezclar el inóculo de siembra con el medio de cultivo imprimiendo a la placa movimientos de vaivén, cinco veces en una dirección; hacerla girar en sentido de las agujas del reloj cinco veces. Repetir este proceso, pero en sentido contrario.

Dejar reposar las placas para que solidifique el agar, luego verter en la superficie una capa sellante.

Dejar solidificar, invertir las cajas e incubar a 35°C, durante 24-48 horas. Pasado el tiempo de incubación, seleccionar las placas que presenten 30-150 colonias.

Contar todas las colonias de 1-2 mm de diámetro (mínimo de 0,5 mm) de color rojo amoratado rodeadas por un halo rojizo.

C.4 *Staphylococcus aureus*

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

A partir del homogenizado preparar diluciones sucesivas del orden 10 según convenga al caso.

Inocular volúmenes de 100 μ L a las placas Petri, y diseminar el inóculo, uniformemente sobre la superficie del agar hasta que sea absorbido por el medio.

Invertir las placas e incubar entre 35 y 37°C durante 32 ± 2 horas

Finalizado el periodo de incubación, contar las unidades formadoras de colonias en las placas elegidas para el recuento.

Elegir placas de dos diluciones consecutivas que contengan 15 y 150 colonias típicas, si contienen más de 150 colonias contar en las placas con la menor cantidad de muestra.

Calcular el número de UFC de *S. aureus*, coagulasa positiva / g ó ml de alimento.

C.5 *Salmonella*

Se preparará homogenizando con 25g de muestra y 225 cc de diluyente, y si es necesario, ajustar el pH a $6,8 \pm 0,2$ con una solución estéril de cloruro de sodio al 2%.

Luego se procede a homogenizar la muestra en el agua de peptona salina, en un matraz Erlenmeyer previamente esterilizada. Se debe tapar asépticamente y se llevara a incubar por 24h con una temperatura de 37 ° C. Este procedimiento servirá para darle tonicidad al medio donde se encuentren posibles células de *Salmonella*.

Pasadas las 24h del pre-enriquecimiento, se procede a tomar con una pipeta 0,1 ml del medio donde se encuentra, el agua de peptona salina junto con la muestra. Seguido a esto se procede a colocar la muestra del pre-enriquecimiento en un

caldo selectivo (Caldo de Rapaport), colocado en otro matraz Erlenmeyer y tapado asépticamente, donde se lo llevara a incubar por 24 h a una temperatura de 43 °C.

Paralelo al inculo en un caldo selectivo, se procede a tomar 0,1ml respectivamente en caldos de lactosa, sacarosa y glucosa. Llevándolos a incubar 24 horas a una temperatura de 37 °C. Siendo esta unas pruebas bioquímicas.

Después de transcurrido el tiempo de incubación del caldo selectivo (Rapaport), se toma muestras para realizar la identificación en agares selectivos. La siembra se realizara en placas de medios sólidos selectivos y diferenciales, con asa de cultivo sembrar en estría sobre la superficie seca de placas de Agar S-S (Salmonella-Shigella). Las placas se invierten y se incuban a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 h.

La mayoría de las colonias típicas de Salmonella son opacas o translúcidas, incoloras o de color crema, con o s in centro negro. Las pocas cepas de Salmonella que fermentan la lactosa presentan colonias lisas de color rosa o naranja.

Se examinaran las placas entre las 20 y 24 h, si el crecimiento es pobre y no aparecen colonias típicas de Salmonella, examinarlas después de 24 horas más de incubación. Cualquier colonia típica o sospechosa debe ser confirmada, ya que reconocer las colonias de *Salmonella* supone mucha experiencia y el aspecto puede variar no solo de especie a especie sino también de lote a lote de medio de cultivo.

De cada placa de medio selectivo se deberán seleccionar 5 colonias típicas o sospechosas bien aisladas y sembrarlas directamente en agar TSI. Si en una placa hay menos de cinco colonias típicas, sembrar todas.

Al inocular en agar TSI, inoculando con asa de aguja, flameando la aguja previamente. Sembrar por picadura la columna del agar y la superficie inclinada en estría, tapparlos con un tapón flojo. Incubar los tubos de TSI entre 35 y 37° C por 24 ± 2 h y 48 ± 2 h, respectivamente.

Si a partir de uno, o de ambos medios de enriquecimiento selectivo, se aísla *Salmonella* en las placas de agar selectivo, reportar: "Se aisló *Salmonella* en 25 g de muestra examinada"; se debe mencionar el medio o medios de enriquecimiento selectivo.

D. Tratamiento estadístico

Para el tratamiento estadístico de los resultados obtenidos experimentalmente, se utilizó el método paramétrico de análisis de varianza unidireccional (ANOVA) y se probaron con respecto a los supuestos de ajuste de los datos a la distribución normal ya la homogeneidad de varianzas. Siempre que se detectaron diferencias estadísticamente significativas, se realizaron las pruebas de comparaciones múltiples de Dunnett (Zar, 2009). Se analizaron mediante un análisis factorial de componentes principales a partir de los cuales se seleccionaron aquellos con valores propios mayores o iguales a uno, explicando así el mayor porcentaje de la variación total de los datos y análisis de clasificación.

Todas las diferencias se consideraron estadísticamente significativas al nivel de 5 % (es decir, siempre que se observó $p\text{-value} < 0,05$) (Zar, 2009). Todos los cálculos se realizaron a través del software estadístico IBM® SPSS® Statistics, versión 24.

CAPÍTULO 3 – RESULTADOS

A Caracterización de los parámetros físico-químicos en estudio

A.1 Determinación de la Humedad

Con respecto a la humedad los tipos de quesos analizados (Figura 28), presentan un porcentaje entre: 46,10 % - 51,90 %, comparando estos valores con la norma ecuatoriana NTE INEN 1528:2012, se consideran como semiduros; los valores promedios de los quesos fresco, saborizado con ají y saborizado con orégano.

En lo que tiene que ver con el análisis de varianza de los tipos de queso que se analizaron revelaron que los valores del porcentaje de humedad del queso fresco y saborizado con ají difieren significativamente con el queso saborizado con orégano (ANOVA, p -value < 0,05).

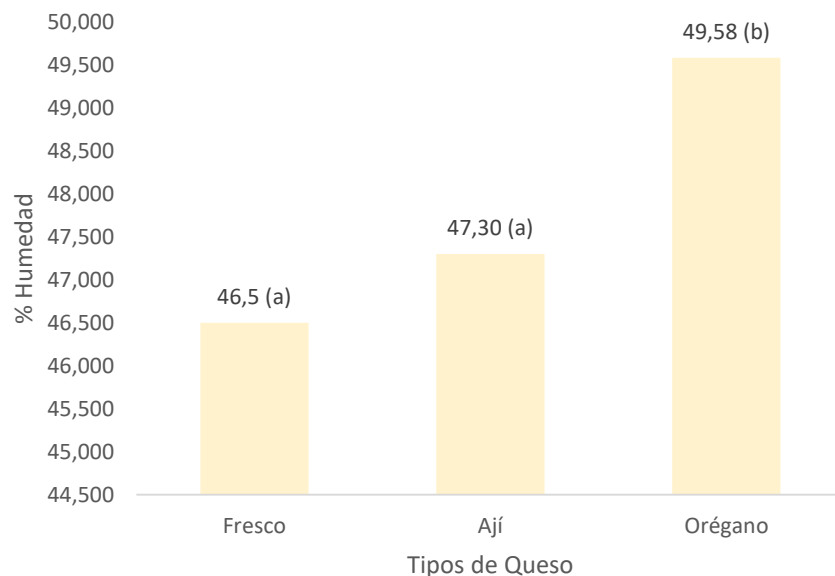


Figura 28. Resultados obtenidos para el porcentaje de humedad en muestras de tres tipos de queso: fresco, saborizado con ají y con orégano; gráficas con letras diferentes determinan diferencias significativas.

A.2 Determinación de la acidez

El porcentaje de acidez que va de 0,33 - 0,42 % de ácido láctico, cabe destacar que este parámetro no se contempla en la norma ecuatoriana INEN para quesos sino que para leche fresca, por lo que se comparó con requisitos de la Norma Técnica Peruana NTP 2002 102:1987, estos valores se observan en la figura 29.

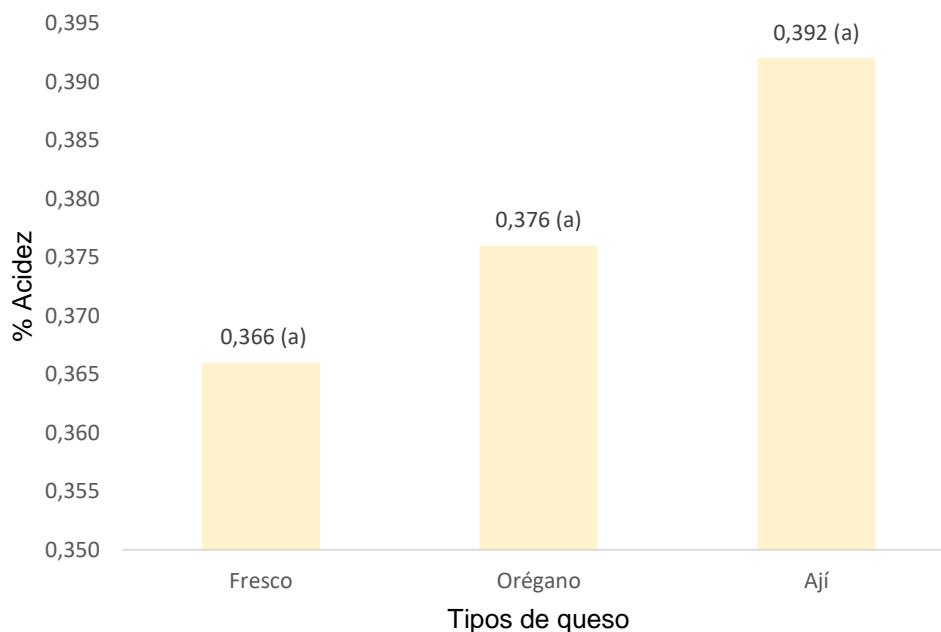


Figura 29. Resultados obtenidos para el porcentaje de acidez en gramos de ácido láctico en muestras de tres tipos de queso: fresco, saborizado con ají y con orégano; gráficas con letras iguales determinan que no hay diferencias significativas.

La comparación de medias mediante el test de Dunnett develaron que los valores del porcentaje de acidez no difieren significativamente entre si (ANOVA *p-value* > 0,05).

A.3 Determinación del potencial Hidrógeno (pH)

La determinación del potencial de hidrógeno iónico de los tipos de queso en estudio, se llevó a cabo utilizando el método indicado en el capítulo de la metodología de un electrodo de pH, obteniéndose los resultados en unidades de pH entre una gama de valores de 0 a 14. Como se indica en la figura 30, los valores medios de pH registrados, en un total de 15 observaciones, fueron

respectivamente, 5,64; 5,96 y 6,32 para los tres diferentes tipos de queso fresco, saborizado con ají y saborizado con orégano.

En comparación, los tipos de queso que se analizaron revelaron que los valores de pH muestran diferencias significativas entre sí (ANOVA, $p\text{-value} < 0,05$).

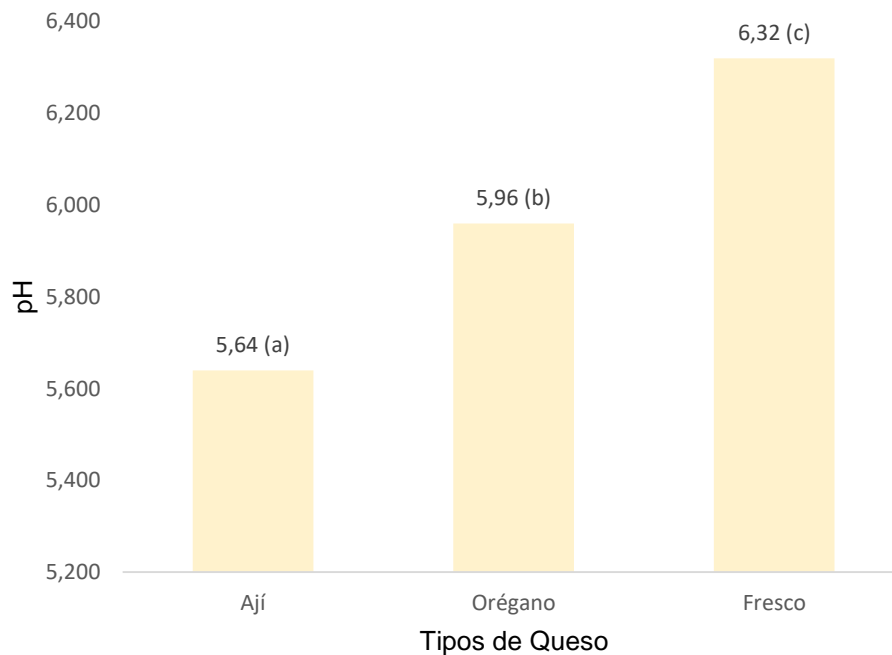


Figura 30. Resultados obtenidos para el parámetro pH en muestras de tres tipos de queso: fresco, saborizado con ají y con orégano; gráficas con letras diferentes determinan diferencias significativas.

B. Caracterización de los parámetros microbiológicos en estudio

B.1 Análisis de componentes principales de la presencia de *Enterobacterias*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* sp., en los quesos frescos y saborizados.

Al realizar el ACP de las variables en estudio, es evidente que en el primer plano el 45,6% de la variabilidad se corresponde satisfactoriamente, de la misma forma en el segundo eje hay un 30,1%, en el tercer 16,4% y en la cuarta variabilidad de 3,8%; como podemos observar en la (Tabla 2).

Tabla 2. Comportamiento de los valores propios obtenidos a partir del ACP de los microorganismos cultivados para determinar la calidad de las muestras de queso: fresco, saborizado con ají y con orégano.

Ejes	1	2	3	4	Varianza total
Valores propios	0,456	0,301	0,164	0,038	1,00
% de la varianza acumulada	45,6	75,7	92,1	95,9	
Sumatoria de los valores propios					1,00

En la figura 31.; podemos apreciar que no hay oposición de las variables para que cada grupo bacteriano tenga un comportamiento diferente de acuerdo con el tiempo de almacenamiento y conservación.

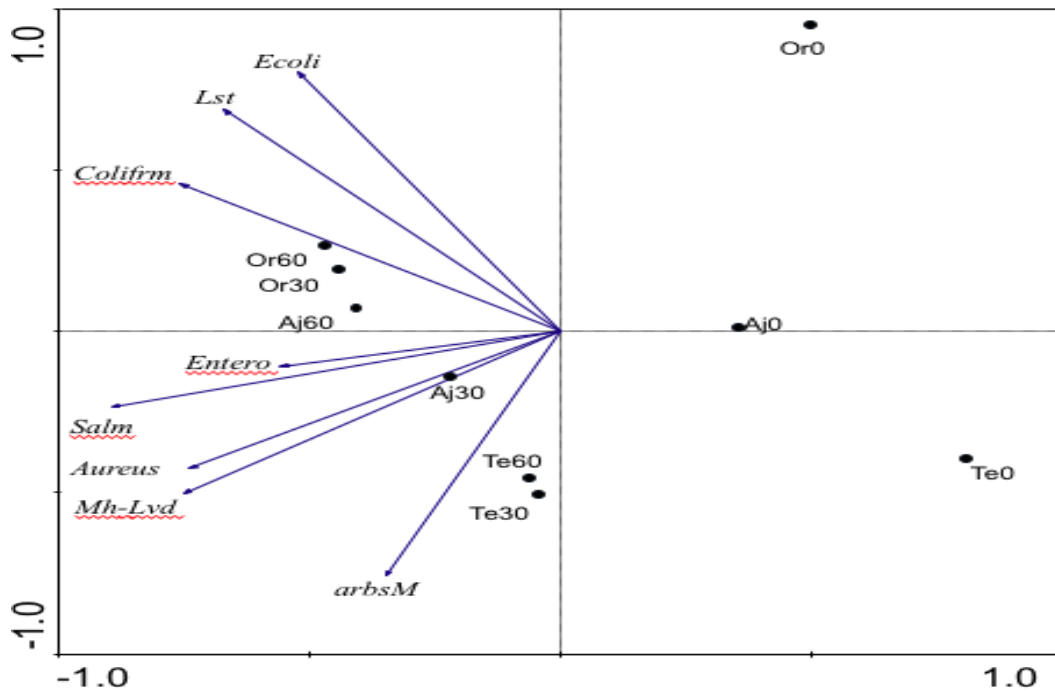


Figura 32. Análisis de componentes principales de los diversos grupos de microorganismos considerados en el presente estudio y relacionándolos con el tiempo de vida de anaquel de los quesos fresco y saborizado. Ecoli=Escherichia coli; Coliform = Coliformes; Entero = Enterobacterias; Lst = Listeria; Salm = Salmonella; Aureus = Staphylococcus aureus; Mh-Lvd = Mohos y levaduras; Or0 = Queso saborizado con orégano 0 días; Aj0 = Queso saborizado con ají 0 días; Or30 = Queso saborizado con orégano 30 días; Or60 = Queso saborizado con orégano 60 días; Aj30 = Queso saborizado con ají 30 días; Aj60 = Queso saborizado con ají 60 días; Te0 = Queso fresco testigo 0 días; Te30 = Queso fresco testigo 30 días y Te60 = Queso fresco testigo 60 días.

Así mismo, es importante destacar que para el parámetro *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli*, existen diferencias significativas cuando se comparan los quesos saborizados con orégano y ajo y el queso con orégano y el testigo ANOVA (p-valor = <0,05).

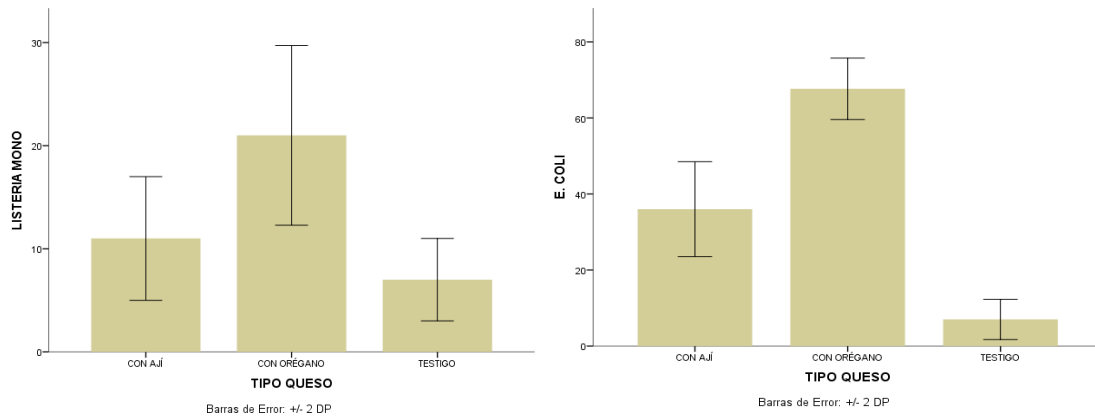


Figura 33. Gráficas de comparaciones múltiples de los tipos de queso y la presencia de *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* en el presente estudio.

C. Puntos críticos de Control identificados en el proceso de elaboración del queso fresco

Con los resultados obtenidos producto de esta investigación, se determinó los principales Puntos Críticos de Control en la evaluación de los riesgos físicos, químicos y microbiológicos en la producción de quesos saborizados en la Cooperativa Agropecuaria Chone Ltda., tal como se detalla a continuación:

Tabla 3. Puntos Críticos de Control de Calidad de la evaluación de los riesgos físicos, químicos y microbiológicos en la producción de quesos saborizados en la Cooperativa Agropecuaria Chone Ltda.

Etapa del proceso	Peligro potencial	Medida de control del peligro
Recepción de la leche cruda	<ul style="list-style-type: none"> Presencia de microorganismos patógenos debido a la falta de una cadena de frío durante ordeño y transporte de la leche a la planta. Contaminación con patógenos por falta de limpieza de equipos, 	<ul style="list-style-type: none"> Transporte refrigerado de la leche. Control de proveedores, aceptando sólo los que traigan a la planta leche fría con una temperatura < 7 ° C, y un tiempo de reducción del azul de metileno > de 2 horas.

RESULTADOS

	operarios u otras prácticas no higiénicas.	
Corte de la cuajada y Desuerado	<ul style="list-style-type: none"> Contaminación por deficiente limpieza de equipos, manipuladores y del medio ambiente. 	<ul style="list-style-type: none"> Limpieza e higiene de equipos. Capacitación en BPM de los manipuladores. Control del ambiente.
Salado	<ul style="list-style-type: none"> Contaminación del producto por microorganismos patógenos presentes en la salmuera. 	<ul style="list-style-type: none"> Control de calidad de la salmuera (acidez, recuento microbiano).
Moldeado y prensado	<ul style="list-style-type: none"> Contaminación por deficiente limpieza e higiene de: lienzos, moldes y manipuladores. Contaminación por deficiente limpieza de las planchas y moldes. 	<ul style="list-style-type: none"> Realizar limpieza efectiva de los moldes y de los lienzos. Realizar previamente una efectiva limpieza del equipo de prensado.
Empacado	<ul style="list-style-type: none"> Contaminación del producto antes del envasado a través de los manipuladores y ambiente por envasado deficiente o incorrecto. 	<ul style="list-style-type: none"> Vigilancia y entrenamiento de los manipuladores, con buenas prácticas de fabricación.
Almacenado	<ul style="list-style-type: none"> Crecimiento de microorganismos patógenos por fallas en la refrigeración del queso. 	<ul style="list-style-type: none"> Control de la temperatura almacenamiento

CAPÍTULO 4 – Discusión de Resultados

Según Osorio, *et al.* (2004), los resultados en cuanto al contenido de porcentaje humedad 46,10 % - 51,90 %; pueden deberse al proceso de elaboración en el cual los valores más bajos pueden ser por un mayor prensado y mayor desuerado que los que presentan menor porcentaje de agua, esto se correlaciona con la presencia de microorganismos hallados ya que, al ser quesos con alto contenido de humedad, son productos que tienen condiciones óptimas para el crecimiento de bacterias.

Es importante destacar también, que la mayor cantidad de microorganismos no se encuentran en los quesos con más alta humedad esto tiene relación también al pH que va de 5,64 - 6,32 según Pastorino, *et al.* (2003), el pH de quesos frescos debe estar entre 4,7 a 5,5. lo que se relaciona con el porcentaje de acidez que va de 0,33 - 0,42 % de ácido láctico.

En la elaboración de quesos frescos, porcentajes altos de humedad y niveles de pH bajos determinan agentes que inciden notoriamente afectando principalmente la textura y sabor durante la conservación, de forma que una excesiva proteólisis podría ocasionar defectos como una textura excesivamente blanda y un sabor amargo (Ramírez, 2012).

Otro factor a tener en cuenta en la elaboración de quesos frescos es el porcentaje de acidez, mismo que a más de incidir en el sabor del queso, también incide directamente en los cambios que experimenta la cuajada del queso, teniendo ésta una correlación directa en los fenómenos de sinéresis (es decir; a mayor acidez, mayor sinéresis) y textura final (Pinho, 2004).

Los valores de *Enterobacteriaceae* se encontraron en $2,07 \times 10^2$ valores que se encuentran dentro de lo establecido por la normativa ecuatoriana NTE INEN 1528:2012, por lo que no hay peligro para el consumidor, pero sin embargo estos valores demuestran malas prácticas de manufactura y por consiguiente, representa un riesgo potencial para la salud del consumidor. Al respecto, Maldonado y Llanca (2008), afirman que la presencia de este género de

microorganismos en alimentos esta relacionado con malas condiciones de fabricación, manejo, almacenamiento y transporte, por lo cual debe existir control en estas áreas, de manera de garantizar un alimento seguro e inocuo para el consumidor.

El recuento de *E. coli* esta en un rango entre $3,23 \times 10^1$ y $3,69 \times 10^1$, que de acuerdo a la norma ecuatoriana NTE INEN 1528:2012, esta ligeramente por encima de lo establecido (10 UFC/g), indicando esto contaminación fecal, por lo cual se restringe su consumo al poder representar un riesgo de salud para los consumidores. Al respecto, Durán, *et al.* (2010) enuncian que recuentos elevados de coliformes fecales desde >10 hasta ≤ 104 NMP/g, evidencian serias falencias a lo largo de la cadena de producción de quesos, como es el caso de la manipulación e higiene y señalan que la presencia de este microorganismo en el producto se debe a diversas condiciones de higiene desde el momento del ordeño de los animales hasta el almacenamiento o venta de los quesos.

Del mismo modo, ANMAT., (2004), determina que el recuento microbiológico de *S. aureus* para los distintos tipos de queso elaborados para este estudio presentó un rango de valores entre 4,67 UFC/g y 6,33 UFC/g. Si bien es una presencia baja, no implica ausencia de este microorganismo, ya que es posible que una población numerosa pudo haberse reducido a un número más pequeño debido a una etapa del proceso, por ejemplo, calentamiento o refrigeración. Por el contrario, la presencia de *S. aureus* por encima de los valores permitidos por la norma puede indicar un riesgo potencial para la salud. En este orden de ideas, Díaz, *et al.* (2005) determinan que la presencia de *S. aureus* manifiesta una gran deficiencia higiénica y representa un peligro latente como vehículo de intoxicación estafilocócica para el público consumidor, quienes sugieren que su presencia en muestras de queso blanco se debe al empleo de leche cruda en la elaboración y en muchos casos por fallas en las prácticas de manufactura.

En lo que se refiere a la presencia de *Salmonella spp.*, los tipos de queso elaborados para el presente estudio registraron valores de pH dentro del rango requerido para este microorganismo (3,8 a 9,5), en los tipos de queso estudiados el promedio de pH en las muestras positivas para *Salmonella spp* fue de

5,97±0,32, acercándose este valor al óptimo requerido por este microorganismo 7 a 7,5 (Crețu, 2009).

Las bacterias prefieren rangos cercanos a la neutralidad pero pueden tolerar pH de 4 a 9, por tanto, el pH de los quesos analizados no es un limitante para su crecimiento; según Citti, *et al.* (1999), *L. monocytogenes* más de 30 días, aún a pH 4,0, y en tales condiciones se ha considerado que es más resistente que los organismos coliformes, por lo que un alimento libre de coliformes no necesariamente está libre de *L. monocytogenes*. Esto conjuntamente con la falta de higiene en el proceso de elaboración convierte al queso en un alimento peligroso para la salud de los consumidores.

Estos resultados presumen que la contaminación se estaría produciendo durante la elaboración del queso, probablemente por el uso de leche contaminada (Catão, 2001). La contaminación de la leche puede proceder de vacas enfermas que padecen mastitis listeriósica asintomática o de muestras de leche de un animal con mastitis subclínica (Laciar, 1999).

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, E., & Pérez, D. (2015). Utilización de ají (*Capsicum frutesces*) en la alimentación de pollos de engorde: desempeño productivo. Corporación Universitaria Santa Rosa de Cabal. Facultad de Ciencias Pecuarias., Zootécnica. Santa Rosa de Cabal: Corporación Universitaria Santa Rosa de cabal. Facultad de Ciencias Pecuarias. Zootécnica.
- Alvarez-Parrilla, E. d. (2011). La actividad antioxidante de F. fresca y procesados Jalapeño y Serrano pimientos. *Agric. Food Chem.*, 163-173.
- Ajila, M. (2017). Control de Calidad en la elaboración de queso fresco mediante Diagrama de Flujo. Machala, El Oro, Ecuador: Universidad Técnica de Machala. Unidad Académica de Ciencias Químicas y de Salud. Carrera de Ingeniería en Alimentos.
- ANMAT. (5 de Marzo, 2011 de 2004). Obtenido de Guía de interpretación de resultados microbiológicos de alimentos. Administración nacional de medicamentos, alimentos y tecnología médica.: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/Guia_de_interpretacion_resultados.
- Asensio, C. (2013). Utilización de aceites esenciales de variedades de orégano como conservante antimicrobiano, antioxidante y de las propiedades sensoriales de alimentos: quesos cottage, ricota y aceite de oliva. Córdoba, Argentina: Tesis Doctoral.
- Azizi A., Y. F. (2009). Herbage yield, essential oil content and composition of three oregano (*Origanum vulgare* L.) populations as affected by soil moisture regimes and nitrogen supply. *Industrial Crops and Products*, 554-561.

- Catão, R. y. (2001). *Listeria* spp., coliformes totais e fecháis e *E. coli* no leite cru e pasteurizado de uma industria de laticínios, no estado da Paraíba (Brazil). . *Ciênc Tecnol Aliment* , 281-287.
- Citti, R. S. (1999). Aislamiento de *L. monocytogenes* en muestras de queso blanco duro tipo llanero del distrito sanitario Uno del estado Aragua, Venezuela. . *Rev Fac Cs Vets*, 101-110.
- Crețu C., F. V.-C. (2009). The influence of pH and temperature on *Salmonella* spp. from fresh, chilled and frozen poultry carcasses. . *Cercetări Agronomice în Moldova.*, 79-84.
- Córdova, A., Yescas, C., & Ortiz-Estrada, A. &. (2016). Invited review: Artisanal Mexican Cheeses. 1–13. <http://doi.org/10.3168/jds.2015-10103>.
- Díaz, R. C. (18 de Enero de 2005). *Staphylococcus aureus* en queso blanco fresco y su relación con diferentes microorganismos indicadores de calidad sanitaria. Obtenido de *Rev. Salud. (Online).*: www.uanl.mx/publicaciones/respyn/ii3/articulos/saureus-1.html.
- Dubach, J. (1980). El "ABC" para la quesería Rural del Ecuador. Ecuador, Ecaudor.
- Durán, M. M. (2010). Evaluación higiénico-sanitaria y acción antagónica de cepas de lactobacilos comerciales frente a microorganismos patógenos (*Escherichia coli*) presentes en el queso de Capa del municipio de Mompox. *Revista Científica FCV-LUZ.*, 312-317.
- Economou. G., P. G. (2011). Variability in essential oil content and composition of *Origanum hirtum* L., *Origanum onites* L., *Coridothymus capitatus* (L.) and *Satureja thymbra* L. populations from the Greek island Ikaria. *Industrial Crops and Products.*, 236-241.

- FAO/OMS. (2008). Leche y productos lácteos. Norma General del Codex para el queso. Codex Stan 283-1978.
- FENAP. (1996). Escherichia coli serotype O157:H7. Novel vehicles of infection and emergente of phenotypic variants. Synopsis. Washington D. C., USA: FDA. Doc. Tec. No. 1, 1:1-9.
- Fiol, C. P. (2016). Nettle cheese : Using nettle leaves (Urtica dioica) to coagulate milk in the fresh cheese making process. International Journal of Gastronomy and Food Science, 19-24.
- Fox, F. y. (1996). Proteolysis in cheese during ripening. . Food Reviews International., 457-509.
- Fox, P. G. (2000). Fundamentals of Cheese Science. Aspen Publishers., 392-422.
- García, B. (2006). Caracterización fisicoquímica de diversos tipos de quesos elaborados en el valle de Tulancingo Hidalgo con el fin de proponer normas de calidad. . Hidalgo, México: Universidad del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Agropecuarias.
- García-Islas, B. (2006). Caracterización fisicoquímica de diversos tipos de quesos elaborados en el Valle de Tulancingo Hgo con el fin de proponer normas de calidad. México: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Tulancingo, Hgo.
- Gunasekaran, S. y. (2003). Cheese Rheology and Texture. CRC Press., 437.
- INEN. (1996). Control microbiológico de los alimentos. Salmonella. Método de detección. NTE-ENEN 1529-15:95. Quito, Pichincha, Ecuador.
- INEN. (1998). Enterobacteriaceae. Recuento en placa por siembra en profundidad. 1529-11:98. Quito, Pichincha, Ecuador.

- INEN. (1998). Staphylococcus aureus. Recuento en placa de siembra por extensión en superficie. NTE-INEN 1529-14:98. Quito, Pichincha , Ecuador.
- INEN. (2012). Norma General para Quesos Frescos no madurados. Requisitos. 1528. Quito, Pichincha, Ecuador.
- Johnson, M. y. (2011). The fundamentals of cheese technology. . Reino Unido: Wiley Blackwell.
- Juarez, C. (1995). Estudio comparativo entre la calidad bacteriológica de quesos frescos y quesos secos en diez plantas procesadoras de productos lácteos. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Kongo, J. &. (2016). Cheese: Types of Cheeses. Module in Food Science Encyclopedia of Food and Helath.
- Laciar, A. V. (1999). Listeria spp. en alimentos de origen animal. Rev Argent Microbiol., 25-30.
- Ledesma, L. F. (2007). Cambios de la composición mineral de quesos de cabra en función de la dieta y el cuajo usado. Archivos de Zootecnia; 568(1);, 719-723.
- LIDERES. (Febereo de 2015). Obtenido de www.ElComercio.com: <http://www.revistalideres.ec/lideres/ecuador-produccion-lactea-queso.html>. ElComercio.com
- Lu, N. S. (2008). Effects of pH on the textural properties and meltability of pasteurized process cheese made with diffenrent types of emulsifying salts. . JFS: Food Engineering and Physical Properties., E363-E369.

- Maldonado, R. y. (2008). estudio de la calidad del queso de mano comercializado en el municipio Girardot, estado Aragua, Venezuela. . Rev. Científica FCV LUZ., 431-436.
- Osorio, J. C. (2004). Caracterización Textural y Fisicoquímica del queso Edam. Revista facultad Nacional de Agronomía., 1-11.
- Pastorino, A. H. (2003). Effect of pH on the chemical Composition and Structure function relationships of cheddar Cheese. Journal of Dairy Science., 2751-2760.
- Pinho, O. M. (2004). Chemical, physical, and sensorial characteristics of “Terrincho” ewe cheese: Changes during ripening and intravarietal comparison. Journal of Dairy Science., 249-257.
- Ramírez, C. y. (2012). Quesos Frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. Temas selectos de Ingeniería de Alimentos., 131-148.
- Revilla, R. (1983). Tecnología de la leche: Procesamiento, manufactura y análisis. México.: Herrera Hermanos.
- Schöbitz, R. (2009). Obtenido de <http://mingaonline.uach.cl/pdf/agrosur/v37n1/art01.pdf>.
- Sánchez. J., C. V. (2016). Diagnóstico de la calidad sanitaria en las queserías artesanales del municipio de Zacazonapan, Estado de México. Salud Pública de México.
- Silva, D. (2008). Manual de métodos de análisis químico de los alimentos. Machala, El Oro, Ecuador: Facultad de Ciencias Químicas.
- Vélez, J. (2009). Rheology and texture of cheese. Nova Science Publishers., 87-122.

Walstra, P. (1990). On the stability of casein micelles. *Journal of Dairy Science*, 1965-1979.

Yildiz, G. R. (2016). Ultrasound-assisted cutting of cheddar ,mozzarella and Swiss cheeses – Effects on quality attributes during storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies.*, 1-9.

Zar, J. (2009). *Biostatistical Analysis*. United States of America: Pearson.