



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA E
INDUSTRIAS**

CARRERA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS

**ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DEL SUERO DE QUESO
FRESCO PASTEURIZADO DE LOS PRODUCTORES
LÁCTEOS DEL CANTÓN MEJÍA – PARROQUIA ALOAG**

**TRABAJO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE INGENIERA DE ALIMENTOS**

MARÍA JOSÉ BURBANO URETA

DIRECTOR: ING. CARLOS GONZÁLEZ

Quito, Noviembre 2016

© Universidad Tecnológica Equinoccial.2016
Reservados todos los derechos de reproducción

FORMULARIO DE REGISTRO BIBLIOGRÁFICO
PROYECTO DE TITULACIÓN

DATOS DE CONTACTO	
CÉDULA DE IDENTIDAD:	1727475723
APELLIDO Y NOMBRES:	Burbano Ureta María José
DIRECCIÓN:	Sector San Carlos. Jorge Piedra y Riobamba N° 54-165
EMAIL:	mjose.burbano@gmail.com
TELÉFONO FIJO:	2264367
TELÉFONO MOVIL:	0984537915

DATOS DE LA OBRA	
TITULO:	“Estudio microbiológico del suero de queso fresco pasteurizado de los productores lácteos del cantón Mejía – parroquia Aloag”
AUTOR O AUTORES:	María José Burbano Ureta
FECHA DE ENTREGA DEL PROYECTO DE TITULACIÓN:	Noviembre 01 de 2016
DIRECTOR DEL PROYECTO DE TITULACIÓN:	Ing. Carlos González
PROGRAMA	PREGRADO <input checked="" type="checkbox"/> POSGRADO <input type="checkbox"/>
TITULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniera de alimentos
RESUMEN: Mínimo 250 palabras	Se estudió la calidad microbiológica del suero de queso fresco pasteurizado de los productores de la parroquia Aloag, en el cantón Mejía. Para lo cual se determinó la línea base de producción de lactosuero,

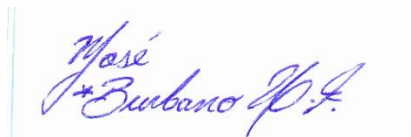
mediante una encuesta que abarcó ítems informativos, productivos y parámetros de calidad. Consecutivamente se seleccionó a los productores que elaboran queso fresco, siendo 21 productores en el cantón, de los cuales cuatro son de la parroquia Aloag (LAA, LAC, LAE y LAV). Finalmente se caracterizó los aspectos microbiológicos por triplicado de aerobios mesófilos *Bacillus cereus*, *Campylobacter*, *Estafilococos*, *Streptococcus*, *Listeria*, *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, hongos filamentosos y levaduras. Para lo cual, se tomó muestras del suero lácteo y se realizó recuento en placa de siembra directa y diluciones. En la siembra directa se estableció la presencia y ausencia de los microorganismos. Mientras que el recuento de las diluciones se comparó con los requerimientos microbiológicos de las normas técnicas nacionales e internacionales con el fin de determinar el cumplimiento en base a la concentración total de microorganismos por ml de dilución. Se planteó probables causas de contaminación en el suero de leche en relación a la concentración de unidades formadoras de colonias por ml. El comportamiento tanto positivo y negativo en las pruebas de tinción Gram concuerdan con la teoría de cada bacteria. En el estudio se evidenció que el suero de queso fresco pasteurizado tiene un perfil microbiológico que no cumple con las normas técnicas por lo cual sería idóneo realizar capacitaciones a los productores para un mejoramiento continuo en la manipulación y producción del suero de leche.

PALABRAS CLAVES:

Microorganismos, lactosuero, Mejía y Aloag

<p>ABSTRACT:</p>	<p>The microbiological quality of pasteurized cheese whey the Aloag Parish in Canton Mejia was determined. For which the Baseline Production of whey was raised by a survey covering news, Productive and Quality Parameters items. Consecutively one only who made cheese was selected, 21 Producers in Canton, of which four son of the parish Aloag (LAA, LAC, LAE and LAV). Finally triplicate Microbiological Aspects of aerobic mesophilic bacteria Bacillus cereus, Campylobacter, staphylococcus, streptococcus, Listeria, Salmonella, Shigella, Escherichia coli, filamentous fungi and yeasts characterized. For that, samples of whey I was taken and counted in direct seeding plate and dilutions. In La Siembra Directa it established Absence and Presence microorganisms. Of While counting the dilutions was compared with microbiological requirements of National and International Standards in order to determine S. compliance based on the total concentration of microorganisms per ml of dilution. SE probable causes of pollution pose in Whey relation to the concentration of colony forming units per ml. The behavior of both positive and negative in tests Gram stain consistent with the theory of Each bacteria. In the study evidenced serum pasteurized cheese Having A microbiological profile does not meet the technical standards so it would be ideal to conduct training to producers to similar continuous improvement in the handling and production of whey.</p>
<p>KEYWORDS</p>	<p>Microorganisms, whey, Mejía y Aloag</p>

Se autoriza la publicación de este Proyecto de Titulación en el Repositorio Digital de la Institución.

A handwritten signature in blue ink, reading "José Burbano Ureta". The signature is written in a cursive style and is enclosed within a light blue rectangular border.

f: _____

BURBANO URETA MARÍA JOSÉ

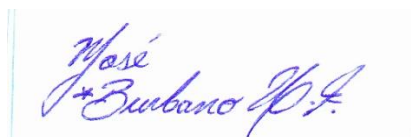
CI. 1727475723

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, **BURBANO URETA MARÍA JOSÉ**, CI 1727475723 autora del proyecto titulado: **“Estudio microbiológico del suero de queso fresco pasteurizado de los productores lácteos del cantón Mejía – parroquia Aloag”** previo a la obtención del título de **INGENIERA DE ALIMENTOS** en la Universidad Tecnológica Equinoccial.

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las Instituciones de Educación Superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.
2. Autorizo a la BIBLIOTECA de la Universidad Tecnológica Equinoccial a tener una copia del referido trabajo de graduación con el propósito de generar un Repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Quito, 01 de noviembre de 2016



f: _____

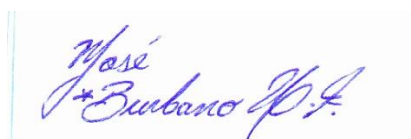
BURBANO URETA MARÍA JOSÉ

1727475723

DECLARACIÓN

Yo **MARÍA JOSÉ BURBANO URETA**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Tecnológica Equinoccial puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

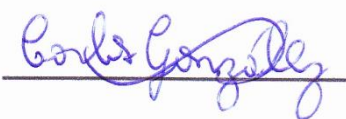


María José Burbano Ureta

C.I. 1727475723

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo que lleva por título “**ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DEL SUERO DE QUESO FRESCO PASTEURIZADO DE LOS PRODUCTORES LÁCTEOS DEL CANTÓN MEJÍA – PARROQUIA ALOAG**”, que, para aspirar al título de **Ingeniera de Alimentos** fue desarrollado por **María José Burbano Ureta**, bajo mi dirección y supervisión, en la Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias; y cumple con las condiciones requeridas por el reglamento de Trabajos de Titulación artículos 19, 27 y 28.

A handwritten signature in blue ink, reading "Carlos González", is written over a horizontal line.

Carlos González

DIRECTOR DEL TRABAJO

C.I. 1716316201

El presente trabajo fue realizado en los laboratorios de la carrera de Ingeniería de Alimentos de la Universidad Tecnológica Equinoccial y los laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana en Quito – Ecuador. Fue financiado por el Proyecto de la Universidad Tecnológica Equinoccial “”, con la colaboración del Lic. Luis Valdés.

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a mi familia, quienes son el pilar fundamental en cada uno de mis pasos. A mis padres que son un ejemplo de seres humanos, a mis hermanos por su afecto incondicional, a mis sobrinos por su cariño.

AGRADECIMIENTOS

Primero a Dios por la mayor bendición que son las valiosas personas que me han acompañado y amado incondicionalmente desde mis primeros pasos, mi familia.

A mis padres Luis y Rosi que siempre han estado con una palmada cálida en la espalda, enseñándome a dar amor; a ellos mi gratitud eterna, pues todo lo que soy, se los debo. A mis hermanos Rodrigo y Andrés que siempre han sido un ejemplo de lealtad, que han creído en mí, me han cuidado y mimado, que nunca hubo algo más importante que apoyarnos. A mis sobrinos Rebe, Rodri y Lucas mi fuente de amor y nobleza.

A Paúl que desde un primer instante me ha estado apoyando infinitamente y empujándome a ser mejor con mucho amor y paciencia me acompaña en el camino siendo un símbolo de amor y fuerza.

A los buenos amigos con los que se ha compartido momentos felices y malos y que independientemente de lugar y tiempo siempre están presentes.

Al Ing. Carlos González, Ing. Elena Beltrán y Lic. Luis Valdes, por su colaboración, profesionalismo y paciencia en el desarrollo de este trabajo.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	PÁGINA
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1. LA LECHE	3
2.1.1. CARACTERÍSTICAS DE LA LECHE	4
2.1.1.1. Composición química de la leche	4
2.1.1.2. Características físicas de la leche	7
2.1.1.3. Perfil sensorial de la leche	9
2.2. QUESO	9
2.2.1. CLASIFICACIÓN DEL QUESO	10
2.2.2. QUESO FRESCO	11
2.2.2.1. Elaboración del queso fresco	12
2.3. LACTOSUERO	14
2.3.1. TIPOS DE LACTOSUERO	14
2.3.1.1. Suero de leche ácido	15
2.3.1.2. Suero de leche dulce	15
2.3.1. PROTEÍNAS DEL LACTOSUERO	16
2.4. MICROBIOLOGÍA DE LA LECHE Y SUS DERIVADOS	19

	PÁGINA
2.4.1. TIPOS DE CONTAMINACIÓN	21
2.4.1.1. <i>Bacillus cereus</i>	21
2.4.1.2. <i>Campylobacter</i>	22
2.4.1.3. Estafilococos	22
2.4.1.4. <i>Streptococcus</i>	23
2.4.1.5. <i>Listeria</i>	23
2.4.1.6. <i>Salmonella</i>	24
2.4.1.7. <i>Shigella</i>	25
2.4.1.8. <i>Escherichia coli</i>	25
2.4.1.9. Hongos multicelulares filamentosos	26
2.4.1.10. Levaduras	26
2.4.2. TINCIÓN GRAM	27
2.4.2.1. Gram positivas	27
2.4.2.2. Gram negativas	28
2.5. CANTÓN MEJÍA	29
2.5.1. HISTORIA	29
2.5.2. PARROQUIA ALOAG	31
3. METODOLOGÍA	34
3.1. LEVANTAMIENTO DE INFORMACIÓN	34
3.2. ESTUDIO MICROBIOLÓGICO	35
3.2.1. MUESTREO	35
3.2.2. DILUCIONES SUCESIVAS	35
3.2.3. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO	36
3.2.4. TÉCNICA DE SIEMBRA EN PLACAS PETRI	37

	PÁGINA
3.2.5. RECUENTO	37
3.3. TINCIÓN GRAM	39
4. ANÁLISIS DE RESULTADOS	41
4.2. LEVANTAMIENTO DE INFORMACIÓN	41
4.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	43
4.2.1. ANÁLISIS DE MUESTRAS DIRECTAS EN PLACA	43
4.2.2. ANÁLISIS DEL MÉTODO DE DILUCIONES	45
4.2.2.1. Productor Lácteo LAA	45
4.2.2.2. Productor Lácteo LAC	49
4.2.2.3. Productor Lácteo LAE	52
4.2.2.4. Productor Lácteo LAV	56
4.2.3. TINCIÓN GRAM	59
4.2.3.1. Aerobios mesófilos	59
4.2.3.2. <i>E.coli</i>	69
4.2.3.3. <i>Salmonella</i>	62
4.2.3.4. <i>Listeria</i>	71
4.2.3.5. <i>Estreptococos, Staphylococcus y Campylobacter</i>	64
4.2.3.6. <i>B. cereus</i>	65
4.2.3.7. Levaduras	66
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	67
5.1. CONCLUSIONES	67
5.2. RECOMENDACIONES	68

	PÁGINA
BIBLIOGRAFÍA	69
ANEXOS	83

ÍNDICE DE TABLAS

	PÁGINA
Tabla 1. Composición general de la leche de vaca	5
Tabla 2. Constantes físicas en la leche	8
Tabla 3. Clasificación del queso	10
Tabla 4. Composición del lactosuero dulce y ácido	16
Tabla 5. Propiedades de las proteínas del lactosuero	17
Tabla 6. Defectos causados por microorganismos en la leche y queso	20
Tabla 7. Descripción de microorganismos Gram positivos	27
Tabla 8. Descripción de microorganismos Gram negativos	28
Tabla 9. Principales actividades económicas del cantón Mejía	31
Tabla 10. Aspectos para la preparación de medios de cultivo	36
Tabla 11. Presencia y ausencia de microorganismos en siembra directa	44
Tabla 12. Concentración total de microorganismos, en el productor lácteo LAA	48
Tabla 13. Concentración total de microorganismos, en el productor lácteo LAC	52
Tabla 14. Concentración total de microorganismos, en el productor lácteo LAE	55

	PÁGINA
Tabla 15. Concentración total de microorganismos, en el productor lácteo LAV	59
Tabla 16. Crecimiento de aerobios mesófilos en placas Petri y resultados de la tinción Gram	60
Tabla 17. Crecimiento de E.coli en placas Petri y resultados de la tinción Gram	61
Tabla 18. Crecimiento de Salmonella en placas Petri y resultados de la tinción Gram	62
Tabla 19. Crecimiento de Listeria en placas Petri y resultados de la tinción Gram	63
Tabla 20. Crecimiento de estreptococos, Staphylococcus y Campylobacter en placas Petri y resultados de la tinción Gram	64
Tabla 21. Crecimiento de B.cereus en placas Petri y resultados de la tinción Gram	65
Tabla 22. Crecimiento de levaduras en placas Petri y resultados de la tinción Gram	66

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura 1. Elaboración del queso fresco pasteurizado	13
Figura 2. Proceso de la tinción Gram	29
Figura 3. Mapa geográfico del cantón Mejía	30
Figura 4. Mapa geográfico de la parroquia Aloag	32
Figura 5. Categorización de los productores en el MIPRO	41
Figura 6. Concentración de los microorganismos por ml de muestra de dilución en el productor LAA	47
Figura 7. Concentración de los microorganismos por ml de muestra de dilución en el productor LAC	51
Figura 8. Concentración de los microorganismos por ml de muestra de dilución en el productor LAE	54
Figura 9. Concentración de los microorganismos por ml de muestra de dilución en el productor LAV	57

ÍNDICE DE ANEXOS

	PÁGINA
Anexo 1.	
Encuesta realizada a los productores lácteos	75
Anexo 2.	
Tabulación de los resultados de la encuesta	78

RESUMEN

Se estudió la calidad microbiológica del suero de queso fresco pasteurizado de los productores de la parroquia Aloag, en el cantón Mejía. Para lo cual se determinó la línea base de producción de lactosuero, mediante una encuesta que abarcó ítems informativos, productivos y parámetros de calidad. Consecutivamente se seleccionó a los productores que elaboran queso fresco, siendo 21 productores en el cantón, de los cuales cuatro son de la parroquia Aloag (LAA, LAC, LAE y LAV). Finalmente se caracterizó los aspectos microbiológicos por triplicado de aerobios mesófilos *Bacillus cereus*, *Campylobacter*, Estafilococos, *Streptococcus*, *Listeria*, Salmonella, Shigella, *Escherichia coli*, hongos filamentosos y levaduras. Para lo cual, se tomó muestras del suero lácteo y se realizó recuento en placa de siembra directa y diluciones. En la siembra directa se estableció la presencia y ausencia de los microorganismos. Mientras que el recuento de las diluciones se comparó con los requerimientos microbiológicos de las normas técnicas nacionales e internacionales con el fin de determinar el cumplimiento en base a la concentración total de microorganismos por ml de dilución. Se planteó probables causas de contaminación en el suero de leche en relación a la concentración de unidades formadoras de colonias por ml. El comportamiento tanto positivo y negativo en las pruebas de tinción Gram concuerdan con la teoría de cada bacteria. En el estudio se evidenció que el suero de queso fresco pasteurizado tiene un perfil microbiológico que no cumple con las normas técnicas por lo cual sería idóneo realizar capacitaciones a los productores para un mejoramiento continuo en la manipulación y producción del suero de leche.

Palabras clave: microorganismos, lactosuero, Mejía y Aloag

ABSTRACT

The microbiological quality whey pasteurized cheese producers Aloag parish in the canton Mejia was studied. For which the whey production base line was determined by a survey covering informative, productive and quality parameters items. Consecutively it was selected producers who make fresh cheese, with 21 producers in the canton, of which four are from the Aloag (LAA, LAC, LAE and LAV) parish. Finally triplicate microbiological aspects of aerobic mesophilic bacteria *Bacillus cereus*, *Campylobacter*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Listeria*, *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, filamentous fungi and yeasts characterized. For that, whey samples was taken and counted in direct seeding plate and dilutions. Direct seeding in the presence and absence of microorganisms was established. While counting dilutions compared with microbiological requirements of national and international technical standards in order to determine compliance based on the total concentration of microorganisms per ml of dilution. likely causes of contamination was raised in the whey in relation to the concentration of colony forming units per ml. The both positive and negative behavior tests Gram staining consistent with the theory of each bacterium. The study showed that serum from fresh pasteurized cheese has a microbiological profile that does not meet the technical standards and it would be ideal to carry out training to producers for continuous improvement in handling and whey production.

Keywords: Microorganisms, whey, Mejía y Aloag

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente la industria láctea es uno de los sectores que más aportan a la economía de países industrializados y en desarrollo. En la elaboración de queso se genera un coproducto llamado suero lácteo, que constituye el 90 % de la leche que se utilizó como materia prima, por lo tanto retiene el 55 % del total de ingredientes de la leche como lactosa, proteínas solubles, lípidos y sales minerales, por lo que se le atribuye un excelente perfil nutricional. Almécija (2007) indica que en el año 2005, se produjo 53 % de lactosuero en Europa, América del Norte y Central 28 %, Asia 6 %, África 5 %, Oceanía 4 %, América del Sur 4 %, estos porcentajes representan 110 -115 millones de toneladas métricas de lactosuero y de estas 6 son de lactosa (Parra, 2009). El Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP) estableció en el informe del 2005, que Ecuador produce 2 500 millones de litros de leche anuales, de los cuales se estima que 771 millones de litros anuales de suero de leche a nivel nacional, El MAGAP estableció que el sector de la industria quesera carece de cifras reales, porque hay un amplio mercado artesanal e informal de producción de queso en el país, sin embargo concluyó que tan sólo el 5% de leche producida nacionalmente (128 millones de litros anuales) es destinada para empresas industrializadas y 643 millones de litros para empresas artesanales (MAGAP, 2006).

El sector lácteo es considerado como la fuente más grande de aguas residuales del procesamiento de alimentos y es por el suero de leche; presenta cargas orgánicas altas a causa de lactosa, grasa y proteína, así como niveles de nitrógeno y fósforo. Las aguas residuales de las industrias lácteas que descargan en alcantarillas pueden variar en volumen, concentración, temperatura, pH y niveles de nutrientes (Sevilla, 2003). A nivel mundial se ha planteado la elaboración de nuevos productos usando suero de leche como materia prima, con el fin de reducir la contaminación

natural y a la vez aprovechar al máximo el valor nutricional del suero de leche (Carillo, 2002).

El estudio será realizado en la Universidad Tecnológica Equinoccial y la Universidad Politécnica Salesiana, está dentro de la línea de investigación de la facultad, en donde se tienen todas las instalaciones para ejecutar los análisis microbiológicos.

El objetivo general del trabajo fue determinar la calidad microbiológica del suero de queso fresco pasteurizado en los productores lácteos de la parroquia Aloag, cantón Mejía. Para cumplir con este objetivo se establecieron los siguientes objetivos específicos:

- Determinar la línea base de producción del lactosuero del queso fresco pasteurizado de los productores lácteos del cantón Mejía-parroquia Aloag.
- Identificar a los productores lácteos del cantón Mejía y seleccionar a los productores de la parroquia Aloag con los que se trabajará en el estudio del lactosuero.
- Caracterizar los aspectos microbiológicos del suero de queso fresco pasteurizado de los productores de la parroquia Aloag.

2. MARCO TEÓRICO

2. MARCO TEÓRICO

2.1. LA LECHE

La leche es considerada el alimento por excelencia, el cual se subministra en los primeros días de vida de los mamíferos, puesto que tiene un alto valor nutricional, que proporciona sustancias de protección para el recién nacido. Por ejemplo en el caso del ser humano, se potencia defensas contra microorganismos patógenos en el intestino del infante, a través del crecimiento de *Lactobacillus bifidus*. Existen hembras de otras especies que producen leche, tales como: la vaca, cabra, oveja, burra, entre otras. Cada una de ellas posee sustancias específicas y beneficiosas para sus crías (Badui, 2006).

En concreto la leche de vaca se ha industrializado a grandes niveles, para elaborar quesos, yogurt, mantequilla y nata por lo tanto de este apartado en adelante, se aludirá a la proveniente de las glándulas mamarias de dichos bovinos, las cuales producen una compleja emulsión de grasa en agua (o/w), de la cual depende su color, ya sea opaco amarillento u opaco blanco. Se obtiene a través de un ordeño diario, higiénico e ininterrumpido (Alais, 2003).

Existen dos grupos de leches destinadas al consumo humano: la leche cruda y la que ha recibido un tratamiento térmico. A esta última se le aplican tres procedimientos físicos: estandarización en la materia grasa, vitaminas, minerales y proteínas, pasteurización para eliminar microorganismos y homogenización con el fin de descartar el desnatado (Revilla, 1969).

Según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 0009 – 2008 la leche, se define como un producto no adulterado, ni alterado con sustancias extrañas, en definitiva íntegro para el consumo humano.

2.1.1. CARACTERÍSTICAS DE LA LECHE

La leche evidentemente está conformada por un complejo sistema fisicoquímico en perfecto equilibrio, el mismo que le otorga cierta especificidad sensorial y un alto valor nutricional.

2.1.1.1. Composición química de la leche

La leche está constituida por una mezcla de alrededor de 450 compuestos. De forma global se identifican los siguientes grupos: agua, grasas, proteínas, azúcares, vitaminas y minerales. El contenido de estos últimos, puede llegar a fluctuar debido a las siguientes variables: especie, raza, edad del animal, tipo de alimentación, factores climáticos, ciclo de lactancia, salud de los cuartos de ubre y estado sanitario de la vaca (Agudelo & Bedoya, 2005).

Considerando como base un litro de leche, se tiene 50 g de lactosa, 32 g de proteína y 40 g de grasa; estos valores son constantes a excepción de la grasa, pues se reducen dependiendo del tipo de leche. El potencial energético varía igualmente dependiendo de la leche: entera 2 720 KJ, semidesnatada 2 090 KJ y desnatada 1 460 KJ (Mahaut, Jeantet, Schuck, & Brulé, 2004).

En la Tabla 1, se presentan los parámetros en la composición de la leche de vaca.

Tabla 1. Composición general de la leche de vaca (por cada 100 g)

Componente	Contenido
Agua	88
Grasa	3.4
Proteína	3.1
Lactosa	4.6
Cenizas	0.7
Minerales	0.7

(Badui, 2006)

La leche de la vaca en comparación a otras especies, tiene un balance óptimo entre lípidos, lactosa y proteína.

- **Agua**

La leche tiene un alto nivel de agua en su composición, varía desde 79 a 90.5 %, por lo general oscila normalmente entre 87 %. Es la fase dispersante, en la que los glóbulos grasos y demás componentes de gran tamaño están emulsionados (Revilla, 1969).

- **Grasa**

Se encuentra en forma de partículas emulsionadas o suspendidas como glóbulos grasos, su tamaño es de 0.1 a 0.22 micrones y están recubiertos

por fosfolípidos que impiden el aglutinamiento y se diferencien de la parte acuosa. El 98 % está representado por ácidos grasos de cadena corta, llamados triglicéridos de un tamaño de 2-8 μm , formados por lípidos, proteínas y sales (Badui, 2006).

La composición es de 65 % de ácidos grasos saturados y 35 % de ácidos grasos insaturados. La diversidad de glóbulos grasos proviene de la dieta de las vacas, la intensa actividad de la microflora del rumen y la síntesis celular (Charley, 2001).

- **Proteína**

La proteína constituida en la leche es de 3.5 %, la cual es el conjunto de varias fracciones proteicas, de las cuales seis son las mayoritarias y contiene de 8-10 aminoácidos esenciales como la lisina, treonina, histidina y metionina. Su aporte energético es del 12 %. Se clasifican según su estado de dispersión en: caseínas 80 % y 20 % las proteínas del suero (Agudelo & Bedoya, 2005).

- **Lactosa**

Es sintetizada en la glándula mamaria y se segrega en la leche. Posee un poder edulcorante seis veces menor que el de la sacarosa y es el componente mayoritario en el extracto seco, y la hace el carbohidrato más importante en la leche (Alais, 2003).

- **Minerales**

La leche contiene una gama de minerales, sin embargo los más trascendentales por su elevado aporte son: calcio (1.25), fósforo (1.00), potasio (1.38), magnesio (0.12) y cloro (1.03).

El calcio y el fósforo son minerales primordiales para el ser humano, a través del consumo de leche se cubre la mitad de la necesidad diaria. En contraste el hierro con 0.001 representa una deficiencia (Charley, 2001).

- **Vitaminas**

La leche es fuente principal de vitaminas A, D, K y E las cuales son liposolubles, estas dependen de la alimentación. Por otro lado están las vitaminas hidrosolubles como el complejo B y la vitamina C, las cuales provienen de la síntesis de los microorganismos del rumen. La aplicación de tratamientos térmicos causan la eliminación de vitaminas termosensibles, por lo tanto la leche cruda, tiene mayor cantidad de vitaminas (Revilla, 1969).

2.1.1.2. Características físicas de la leche

Como se observa en la Tabla 2 los parámetros físicos que se cuantifican tienen valores constantes, y en algunos de los casos permiten establecer el nivel de calidad, debido a que la fluctuación de valores indican alteraciones en la leche.

Tabla 2. Constantes físicas en la leche.

Parámetro	Valores constantes
pH (20°C)	6.5-6.7
Acidez titulable	15 a 18° D
Densidad	1.028 – 1.036 g/ml o 28-34°Q
Punto crioscópico	-0.513 °C a – 0.565°C

(Agudelo & Bedoya, 2005).

El pH es un indicador de frescura y óptima conservación después del ordeño, porque una vez degradada la lactosa por bacterias lácticas, se produce el ácido láctico el cual genera un descenso del pH (Casado & García, 2002).

La acidez titulable se expresa en grados Dornic (°D) 0.1 gramos de ácido láctico por litro, corresponde a un 1°D; los valores menores a la constante evidencian enfermedades de mastitis en la vaca o adición de sustancias alcalinas y agua, mientras que valores mayores son producidos por bacterias contaminantes (Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería, 2010).

La composición de la leche es responsable de la densidad de la misma, por lo tanto, hay oscilación en los valores cuando se han incorporado otras sustancias. Se mide en grados Quevenne (°Q) o g/ml y a una temperatura estándar de 15-20 °C (Artica, 2014).

La lactosa y las sales coloidales influyen en el punto de congelación. Este parámetro permite comprobar la adición de agua (Casado & García, 2002).

2.1.1.3. Perfil sensorial de la leche

Los cuatro aspectos más influyentes en la descripción del perfil sensorial son:

- Sabor: varía de la especie de la cual proviene la leche y de la alimentación del animal, sin embargo tiene un bajo grado de dulzor, por la presencia de lactosa.
- Color: por lo común es blanco opalescente, debido a que los glóbulos de grasa y caseína no permiten que la luz atraviese el alimento; mientras que el tono amarillento es otorgado por beta carotenos de la materia grasa.
- Olor: es característico, proviene de la grasa y depende del heno consumido.
- Textura: Es líquida con el doble de densidad del agua (Revilla, 1969).

2.2. QUESO

El queso es un derivado lácteo, obtenido en la coagulación enzimática de la leche, donde se retiene en mayor porcentaje grasa y posteriormente el lactosuero es separado. En el proceso se usa cultivos de levadura o bacterias lácticas (*S.lactis*, *S. cremosis*, *S. termophilus*), cuajo, enzimas coagulantes, sal (opcional) y aditivos autorizados (Madrid, 1999).

El queso está constituido por grasa, caseína, sales solubles, lactosa, albúmina y agua con un porcentaje mínimo de sales solubles; todos estos

elementos nutricionales son conservados al coagular la leche, acidificarla y deshidratar la cuajada (Heer, 2007).

2.2.1. CLASIFICACIÓN DEL QUESO

Como se observa en la Tabla 3, los quesos se clasifican en tres grandes grupos. Las diferencias en cuanto a componentes es mayoritario el porcentaje de presencia de humedad en los frescos, la grasa y proteína varían dependiendo del tipo de leche que fue materia prima.

Tabla 3. Clasificación del queso

Tipos de queso	Definición	Componentes (%)		
		Grasa	Proteína	Humedad
Madurados o afinados	Son de pasta dura, semidura o blanda, se los madura durante algunos días o hasta meses	25	22	Máx 45
	Se dividen:			
	Son cremosos, semicremosos o descremados;			
	cocidos o sólo pasteurizados. Se deben consumir máximo en 30 días. Según la leche que es materia prima se dividen en:			
Frescos	Leche descremada	-	30	50
	Leche parcialmente	18	30	48
	Leche crema	20	20	55
	Leche doble crema	35	17	45
	Requesón		-20	70
Fundidos	Fusión de otros tipos de quesos, con o sin adición de sustancias alcalinas.			

(Madrid, 1999)

La clasificación de los quesos se ve influenciada por algunos factores que son:

- Factores físico-químicos: pH, temperatura y efectos osmóticos.

- Factores bioquímicos: concentración, propiedades de las enzimas coagulantes, tipo de bacterias, levaduras o mohos usados en la fabricación.
- Factores químicos: básicamente se refiere a la composición de la leche.
- Factores mecánicos: sistemas para la fabricación ya sea corte, agitación, trituración y frotamiento.
- Factores microbiológicos: microorganismos usados en la acidificación, microflora normal de la leche y agentes bacterianos contaminantes en el proceso.

Existen otras clasificaciones del queso, que se basan en varios criterios como: la leche con la cual fueron elaborados, método de coagulación de la leche, contenido de humedad del queso, contenido de grasa del queso, textura del queso acabado, método para la maduración y microorganismos empleados en la fabricación (Madrid, 1999).

2.2.2. QUESO FRESCO

Según la Norma INEN Ecuatoriana lo define como el queso que no se es madurado, ni escaldado. Es sometido a procesos de moldeado, el cual tienen una textura firme y ligeramente granulada. La leche usada para su elaboración puede ser entera, semidescremada o descremada; y se lo coagula ya sea con enzimas o ácidos orgánicos. Al no ser madurado su consumo es directo e inmediato y debe ser conservado en refrigeración.

2.2.2.1. Elaboración del queso fresco

La leche usada como materia prima debe cumplir con ciertos requerimientos: calidad microbiológica, físico-química y organoléptica. Por ejemplo: una leche aguada afectará en la coagulación, trazas de productos de limpieza varía las condiciones de fermentación y el grado de lipólisis, afecta al gusto rancio (Revilla, 1969).

El proceso de elaboración inicia con la recepción de la materia prima, en este paso es primordial mantener un nivel eficiente de conservación de la leche, lo cual es una refrigeración de 2-6 °C. Los tratamientos previos para preparar la leche son: eliminar las impurezas, eliminar bacterias, normalizar la grasa. Por tal razón es indispensable una correcta pasteurización de 72 – 75 °C durante 15-20 segundos, con el fin de destruir elementos indeseables (Madrid, 1999).

Una vez preparada la leche se procede a la coagulación de la caseína, existen dos metodologías: la primera usa ácido láctico o acético, que produce la desmineralización del ácido sobre la micela y se modifica electrostáticamente neutralizando la carga a un punto isoeléctrico de 4.6, lo que causa cierta inestabilidad y defectos finales. El segundo método es enzimático con la acción del cuajo (extracto del estómago de la ternera, su principio activo es la enzima renina). La temperatura ideal es de 40 °C, puesto que influye en la obtención de un coágulo firme, en el desarrollo bacteriano y la maduración de ser el caso. Una vez transcurrido el tiempo se corta el cuajo, se agita y se drena el suero lácteo (Madrid, 1999).

Los coágulos son colocados en moldes de plástico o acero inoxidable, para darles la forma final. Y se los prensa con su propio peso o usando dispositivos mecánicos o neumáticos. El salado es opcional dependiendo de las preferencias de los consumidores; se lleva a cabo ya sea por inmersión

en la salmuera o adición de sal sólida en la corteza y mezcla (Charley, 2001).

En la Figura 1 se resume en un diagrama de flujo el proceso de elaboración del queso.

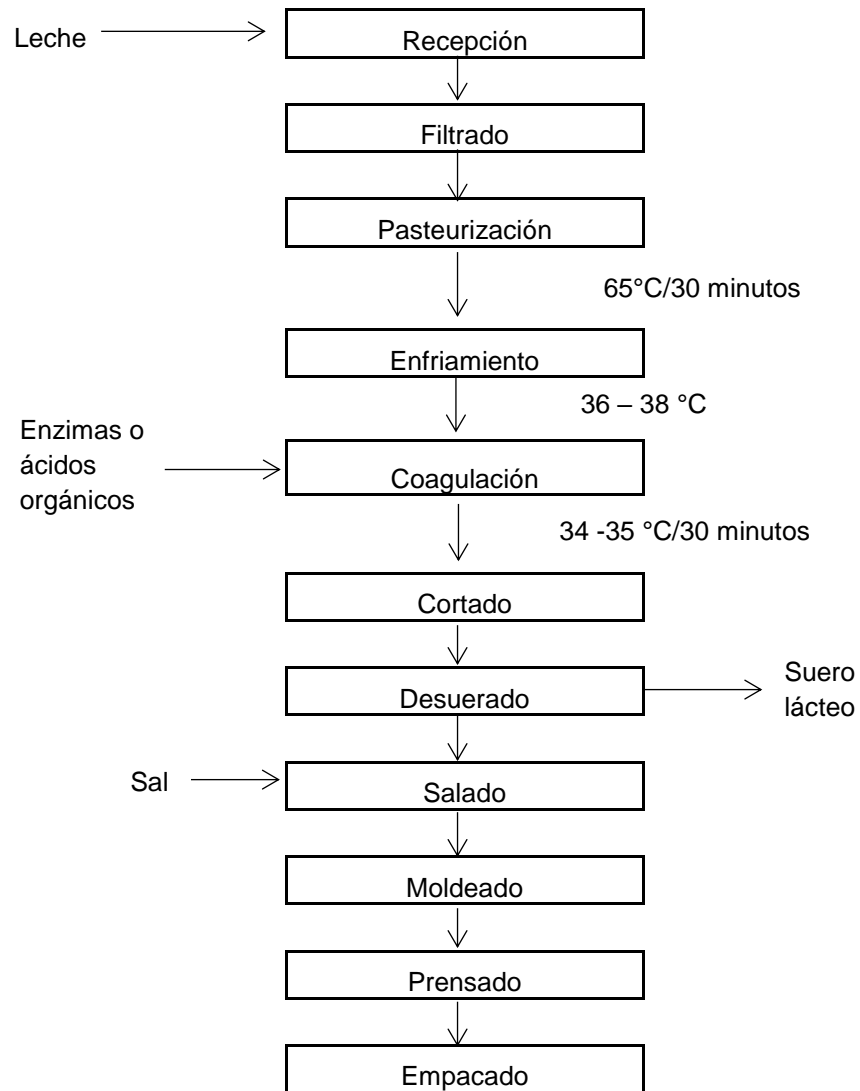


Figura 1. Elaboración del queso fresco

2.3. LACTOSUERO

El suero de leche es el líquido turbio y verdoso residual que queda después de separar la cuajada, al batir la crema y quitar la grasa, en la producción del queso. Es similar a la leche descremada, con la diferencia que contiene fosfolípidos y proteínas de las membranas procedentes de glóbulos de grasa. Las proteínas solubles son insensibles a la acción coagulante de la quimosina y constituyen el 17 % del total de las proteínas de la leche (Charley, 2001).

Otra característica de las proteínas solubles es la insensibilidad a la acción coagulante de la quimosina, al estar en gran porcentaje disminuye el contenido de caseína lo que significa dificultad en coagulación (Lezama, 2010).

Alrededor del 90 % de la leche que es usada en la fabricación de quesos es eliminada en forma de suero lácteo. El 55 % de los nutrientes igualmente están retenidos en este líquido, por lo tanto el valor nutricional es muy alto. Como punto de referencia al usar 10 litros de leche se produce de 1 a 2 kilogramos de queso y a la par 8 a 9 kilogramos de suero de leche (Badui, 2006).

2.3.2. TIPOS DE LACTOSUERO

Los tipos de suero surgen de ciertas diferencias como la leche utilizada, el tipo de queso elaborado y el proceso tecnológico empleado para la producción de quesos. Estos aspectos le dan al lactosuero variaciones en la composición nutricional y los divide dos clases: suero de leche dulce y ácido (Hernández & Vélez, 2014).

2.3.1.1. Suero de leche ácido

Se realiza con la acidificación directa, al añadir ácido láctico, acético o microorganismos que produzcan estos ácidos orgánicos. Consiste en la reducción del pH a 4.5 o 4.6, con lo que se alcanza el punto isoeléctrico y la carga eléctrica de las proteínas es cero, provocando que la micela de la caseína pierda estabilidad y finalmente precipite por la acidez (Badui, 2006).

Está constituido por más del 80 % de minerales provenientes de la leche, por lo cual debe neutralizarse (principalmente del fósforo), por otro lado su contenido de lactosa es reducido por la fermentación láctica (Álvarez , 2013). Es ideal como materia prima de bebidas cítricas debido al bajo pH y para producir queso ricotta (Álvarez , 2013).

2.3.2.1. Suero de leche dulce

Es obtenido cuando la coagulación se realiza mediante enzimas proteolíticas o cuajo. Las mismas que actúan sobre la caseína y la rompe, conllevando a la desestabilización y precipitación. A temperatura estándar de 15-50 °C y un pH ácido. Su contenido en cuanto a cenizas, calcio, fósforo, ácido láctico, lactosa y sólidos totales es menor en comparación al suero de leche ácido (Hernández & Vélez, 2014).

A partir del suero dulce se obtienen los siguientes subtipos de sueros: líquido clarificado, concentrado de ultrafiltración, líquido pasteurizado, líquido desmineralizado y crema de suero (Álvarez , 2013). La Tabla 4 detalla las propiedades nutricionales del suero tanto ácido como dulce.

Tabla 4. Composición del lactosuero dulce y ácido

Componente (g/L)	Lactosuero dulce	Lactosuero ácido
Sólidos totales	63.0-70.0	63-70
Lactosa	46-52	44-46
Grasa	0-5	0-5
Proteína	6-10	6-8
Calcio	0.4-0.6	1.2-1.6
Fósforo	0.4-0.7	0.5-0.8
Potasio	1.4-1.6	1.4-1.6
Cloruro	2-2.2	2-2.2
pH	6.2	4.6

(Hernández & Vélez, 2014)

2.3.1. PROTEÍNAS DEL LACTOSUERO

Las proteínas del lactosuero son solubles y están formadas por holoproteínas y glicoproteínas, contienen una gran cantidad de cisteína, lisina, leucina, triptófano y ácidos glutámico y aspártico; por lo cual tienen un alto valor nutricional (Badui, 2006).

Las proteínas séricas no interactúan con otras proteínas ni se agregan fácilmente, por ello es que se retienen en el suero. Esto se debe a una estructura globular compacta y una polaridad uniforme, a esto se suma la formación de puentes bisulfuro entre grupos sulfhídrico de las cisteínas, provocando plegamiento intermolecular y que los grupos hidrofóbicos se capturen en el interior de la molécula (Lezama, 2010).

En la Tabla 5 se resume las principales proteínas que constituyen el suero de la leche con su peso molecular, porcentajes en la composición química y grado de desnaturalización de cada una, las proteosa-peptona que es completamente termosensible. A 100 °C se verifica la floculación de todas las proteínas (Santos, 1991).

Tabla 5. Propiedades de las Proteínas del lactosuero

Proteína	PM (g/mol)	Fósforo (%)	Carbohidratos (%)	PI	Desnaturalización
β-lactoglobulina	18 200	0	0	5.3	85-90
α-lactoalbúmina	14 200	0	0	4.2-4.5	90-95
Seroalbúmina	69 000	0	0	4.7	75
Inmunoglobulina	160 000	0	2.9	5.6-6.0	70
# 3	22 000	0.5	17.3		TERMOSENSIBLE
Proteosa-peptona	# 5	14 300	1.0	1.5	
	# 8 (rápida)	4 100	2.8	2.0	3.8-9.3
	# 8 (lenta)	9 900	2.1	9.0	

(Santos , 1991)

- **β- lactoglobulina**

Al representar el 50 % del total de la estructura del suero de leche, se establece como la principal proteína. Es la responsable de sabor a cocido en la leche hervida, a consecuencia de la desnaturalización y la ruptura de los puentes sulfhídrico. Es fuente rica en cisteína.

- **α -lactoalbúmina**

Representa el 22 % del total de las proteínas y aporta con 7.2 % en contenido de triptófano. Realiza la síntesis de la lactosa y tiene alto contenido de aminoácidos de cadenas ramificadas.

- **Seroalbúmina**

Constituye el 5 % del total de las proteínas. Al poseer el mismo peso molecular de 69 000 g/mol, misma movilidad electroforética y propiedades inmunológicas, se la considera igual a la albúmina del suero sanguíneo.

- **Inmunoglobulina**

Son las moléculas más grandes presentes en el suero, conforman propiedades inmunológicas de la globulina y las primeras en ser desnaturalizadas en un tratamiento térmico. Estudios recientes afirman una actividad inhibidora porque se ha detectado aglutininas, que agrupan ciertas bacterias.

- **Proteosa-peptona**

Están ubicadas en las micelas, en la película del gránulo de las grasas. Son de bajo peso molecular representan el 10 % en contenido. A diferencia de otras proteínas del suero que son nulas en contenido de carbohidratos, las

proteosa-peptona tienen un alto porcentaje de carbohidratos y 6 % de fósforo. A la vez están formadas por componente 3 que es rico en hexosaminas (6 %), ácido siálico (3 %) pero escaso en fósforo (0.5 %). Los otros tres componentes de la proteína son ricos en carbohidratos, ácido siálico y en fósforo.

A parte de las proteínas ya nombradas, hay un 5 % más de proteínas, difíciles de clasificar por su variabilidad. Entre ellas están: transferrinas o proteínas rojas, lactolinas y las proteínas de las membranas del glóbulo de grasa (Santos , 1991).

2.4. MICROBIOLOGÍA DE LA LECHE Y SUS DERIVADOS

Tanto el queso como el suero lácteo dependen en gran medida de la microbiología de la leche, por ser la materia prima.

Al poseer un valor nutricional elevado, la leche se convierte en un medio viable para la proliferación de bacterias, mohos y levaduras. Siendo sustrato para la reproducción de microorganismos saprófitos y patógenos. Los microorganismos saprófitos no afectan a la salud, sin embargo denotan deficiente higiene en el proceso de ordeño y conservación. Los microorganismos patógenos generan toxinas que causan enfermedades en los consumidores. Ambos afectan en la calidad final de los productos y subproductos (Gomez , 2013).

Las bacterias presentes en la leche pueden resistir un pH de 4.0 y son anaerobias facultativas, mesófilas y termófilas. Principalmente hay homofermentativas que fermentan y producen ácido láctico y heterofermentativas, aquí se encuentran cierta gama de ácidos orgánicos y gases (Casado & García, 2002).

Las bacterias ácido lácticas más importante son: *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Vagococcus*, *Aerococcus*, *Tetragonococcus*, *Alloiococcus*, *Bifidobacterium*.

Las bacterias coliformes son anaerobias aerotolerantes, que son las responsables de fermentaciones anormales y no deseadas. Las más comunes son *Aerobacter aerogenes* y *Escherichia coli* (Heer, 2007).

En la Tabla 6 se describe algunos defectos que ocurren en los productos y los microorganismos causantes.

Tabla 6. Defectos causados por microorganismos en la leche y queso

Leche		Queso	
Defecto	Microorganismos responsables	Defecto	Microorganismos responsables
Amargor	Bacterias psicrotrofas (<i>Bacillus cereus</i>)	Textura abierta, fisuras	Lactobacilos heterofermentativos
Rancidez	Bacterias psicrotrofas	Gas temprano	Coliformes y Levaduras
Sabor a fruta	Bacterias psicrotrofas	Gas tardío	Especies de <i>Clostridia</i>
Coagulación	Especies de <i>Bacillus</i>	Rancidez	Bacterias psicrotrofas
Cortado	Bacterias lácticas	Sabor a fruta	Bacterias lácticas
Sabor a malta	Bacterias lácticas	Depósitos cristalinos blancos en la superficie	Especies de <i>Lactobacillus</i>
Filamentosidad	Bacterias lácticas	Coloración rosa	<i>Lactobacillus delbruecgkii</i> , subsp, <i>bulgaricus</i>

(Doyle, Beuchat, & Montville, 2001).

El queso constituye un sustrato de crecimiento microbiano diferente que el de la leche, debido a la sal que se le añade y menor humedad, lo que produce menor actividad de agua, además que su estado sólido, impide la

movilidad de los microorganismos, por lo tanto su conservación es mayor en comparación a la leche (Doyle, Beuchat, & Montville, 2001).

2.4.1. TIPOS DE CONTAMINACIÓN

La contaminación inicial de la ubre o del estado del animal, se la conoce como microflora intrínseca, es muy común encontrar: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Corynebacterium*. La microflora normal depende de la temperatura, por ejemplo: el *Streptococcus lactis* aparecen de 15 °C a 30 °C, superior a esta temperatura hay lactobacilos y bacilos coliformes, que fermentan la lactosa. A los 45 °C proliferan lactobacilos termófilos (Collins & Lyne, 1989).

Por otro lado la contaminación que fue adquirida durante el proceso es de origen extrínseco, en donde la higiene, manipulación del personal, transporte, equipo de ordeño y conservación fueron deficientes que causaron aumento de microorganismos (Celis & Juárez, 2009).

El estudio microbiológico permite la determinación de la carga microbiana en el suero de leche, con lo cual se conoce la calidad de las mismas.

2.4.1.1. *Bacillus cereus*

Son bacilos aerobios de 1.0 a 1.2 µm, Gram positivos, esporulados y móviles. Son causantes del síndrome emético y diarreico, principalmente afecta gravemente a niños y ancianos. Sobrevive a la pasteurización y existen cepas psicotróficas, sin embargo la mayoría son incapaces de crecer a menos de 10 °C (Doyle, Beuchat, & Montville, 2001).

Frecuentemente se encuentra en el agua, suelo, vegetación y aire, pero se propaga a los alimentos tales como: carne, huevos y lácteos. En la leche descompone la caseína a péptidos y aminoácidos y la grasa a ácidos grasos libres ocasionando la descomposición (Pérez, 2012).

2.4.1.2. *Campylobacter*

El género *Campylobacter* comprende 16 especies y seis subespecies, habita en el intestino de aves, ser humano y se propaga por el consumo de carne cruda o de cocción leve; provocando Campylobacteriosis. Las especies más frecuentes son *C.jejuni*, *C. coli* y *C.lari* (World Organisation for Animal Health, 2008).

Su forma es la de un espiral de 0.2 a 0.8 μm de ancho y 0.5 a 5 μm de largo. Son bacterias Gram negativas, no esporuladas y móviles. Las condiciones óptimas para el crecimiento son: de 37 - 43 °C, pH de 6.5 a 7.5 y una actividad de agua relativa de 0.997. Son de ambientes aerobios pero hay cepas que se desarrollan en anaerobiosis (Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria, 2013).

2.4.1.3. *Estafilococos*

Pertenecen a la familia *Micrococcaceae*, que tiene tres géneros: *Staphylococcus*, *Micrococcus* y *Planononus*. Las tres especies más importantes son: *S. aureus* (común en alimentos), *S. epidermis* y *S. saprophyticus* (Moreno, Diez, García, Menes, Gutiérrez, & Polledo, 2007).

Son pequeñas bacterias esféricas de 0.5 a 1.5 μm con características organotróficas, Gram positivas, no exigentes, catalasa positivos, con

agrupaciones en racimos, aerobios o anaerobios. Se multiplican exponencialmente a temperaturas de 6.7 a 45.5 °C y producen automáticamente enterotoxinas (Chans, 2002).

El mayor reservorio de estafilococos está en el ser humano, pues estas bacterias están presentes en las fosas nasales, manos y los vehículos de contaminación por ejemplo son los estornudos (Velázquez , 2005).

2.4.1.4. *Streptococcus*

Son células esféricas u ovoides que crecen en pares o cadena de longitud variables, homofermentativas desprovistas de un mecanismo de respiración. Presentan propiedades de anaerobios facultativos, catalasa negativos y acumulan ácido láctico dextrógiro como su producto final después de fermentar la glucosa y otros tipos de carbohidratos (Rodríguez, 2000).

Las infecciones asociadas a este género muestran cuadros de amigdalitis aguda, otitis media, sinusitis, neumonía, meningitis, infección del tracto urinario, infección abdominal o cutánea, entre otros. Las especies *S. lactis* y *S. cremosis* son importantes en la elaboración de productos lácteos por sus propiedades fermentativas (Charley, 2001).

2.4.1.5. *Listeria*

Pertenece a la subrama de *Clostridium* junto con *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Brochothris*. Provoca la listeriosis es una infección causante de septicemias, abortos, inflamaciones, meningitis y adenitis múltiple (Moreno, Diez, García , Menes, Gutiérrez, & Polledo, 2007).

La *Listeria monocytogenes* es una de las especies más comunes que causan toxiinfecciones alimentarias, su taxonomía es la de una bacteria inmóvil, no esporulada, Gram positiva, microaeróbia y tiene una forma bacilar. Resistente a condiciones ambientales adversas como temperaturas de 2 a 4 °C, pH bajo y concentraciones elevadas de NaCl. Es común su presencia en carnes, leche y coles a una temperatura incluso de 5 °C (Collins & Lyne, 1989).

2.4.1.6. Salmonella

Es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo perteneciente a la familia de las *Enterobacteriaceae* (existen 1600 tipos serológicamente diferentes). Presenta flagelos peritricos que lo hacen móvil al bacilo, sin embargo existen especies inmóviles. Muestra característica de oxidasa negativa y catalasa positiva, además de que la única fuente de carbono es el citrato, produciendo sulfuro de hidrógeno. Con una temperatura óptima para su crecimiento de 37 °C (Charley, 2001).

Son quimioorganotróficas (metabolizan nutrientes por vías metabólicas respiratoria y fermentativa). Al catalizar algunos carbohidratos producen ácido y gas (Collins & Lyne, 1989).

Representan un peligro potencial a la salud por la sintomatología de sus infecciones entéricas, la salmonelosis causa infección gastrointestinal con fiebre, diarreas, dolores abdominales y vómitos; es sumamente peligrosa en niños y personas de la tercera edad; comúnmente la causante es la especie *S. typhimurium*. La contaminación es vía oral (Moreno, Diez, García , Menes, Gutiérrez, & Polledo, 2007).

2.4.1.7. *Shigella*

Es de estructura bacilar, inmóvil, oxidasa negativa, Gram negativa y no fermenta lactosa. Su temperatura de crecimiento es bajo 25 °C. Genéticamente es idéntica a la *E. coli* y está emparentada a la *Salmonella* y *Citrobacter* (Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria, 2013).

Se transmite en alimentos o agua contaminada por excretores humanos, causando enterocolitis (shigelosis), la cual genera toxinas y penetra en la mucosa intestinal. Los serotipos más comunes son *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* y *S. tonnei* (Collins & Lyne, 1989).

2.4.1.8. *Escherichia coli*

Su hábitat por excelencia es la microflora del tracto entérico del ser humano y animales, por lo que la *E. coli* es anaerobia facultativa. Conformar parte de la familia de Enterobacteriaceae (coliformes), es un bacilo Gram negativo en cuanto a la lactosa algunas cepas son positivas y negativas (Collins & Lyne, 1989).

La aparición de *E.coli*, denota contaminación directa o indirecta de materia fecal. Evidenciando déficit en limpieza, manipulación de alimentos o almacenamientos poco adecuados (Celis & Juárez, 2009).

2.4.1.9. Hongos multicelulares filamentosos

También se los conoce como mohos, son microorganismos mesófilos, aerobios estrictos y están dotados por un micelio verdadero. Los hongos filamentosos cuando crecen en los alimentos presentan un aspecto algodonado por lo general no causan infecciones o enfermedades graves, sin embargo si generan micotoxinas representan un peligro inminente el consumo (Doyle, Beuchat, & Montville, 2001).

2.4.1.10. Levaduras

Son células eucariotas de un tamaño aproximado de 5 μm , su crecimiento es lento en comparación a las bacterias, se demoran cinco días a 25 °C para desarrollar colonias (Vicent, Álvarez, & Zaragoza, 2006).

En los alimentos ácidos y de una actividad de agua baja el crecimiento es tardío y viceversa. Crecen tanto en ambientes con oxígeno o desprovisto de este gas, se aclara que en presencia de oxígeno la curva de cinética es más rápida (Moreno, Diez, García, Menes, Gutiérrez, & Polledo, 2007).

No representan un peligro para la salud humana, no obstante causan olores típicos de levadura o afrutados y producción de gas; que no favorecen al consumo del producto (Doyle, Beuchat, & Montville, 2001).

2.4.2. TINCIÓN GRAM

La tinción Gram es un método para la diferenciación de bacterias y clasificación, el proceso se basa en la estructura de la pared bacteriana, se observa la morfología del microorganismo por medio de un microscopio. Hay dos grupos Gram positivas y Gram negativas; la diferenciación depende en retención o no del colorante primario luego del proceso decolorativo (Collins & Lyne, 1989).

2.4.2.1. Gram positivas

Los microorganismos que retienen el colorante primario (cristal violeta) después de la adición decolorante (alcohol), tienen un tono azul oscuro o violeta y se los denomina Gram positivas (Collins & Lyne, 1989). En la Tabla 7 se enlista a algunos organismos que cumplen con los parámetros.

Tabla 7. Descripción de microorganismos Gram positivos.

Microorganismo	Descripción
Bacterias lácticas	Son las responsables de la fermentación de la lactosa y el resultado es ácido láctico.
Micrococos	Son aerobias, que degradan de forma oxidante la glucosa, reduciendo el pH.
Estafilococos	Son anaerobios facultativos que fermentan la glucosa y reducen el pH a 4.3-4.5. Las más representativas son <i>Staphylococcus aureus</i>
Bacterias esporuladas (<i>Bacillaceae</i>)	Son bacilos mesófilos y termófilos. Producen esporas Producen acidificación, coagulación y proteólisis
Diversas	<i>Corybacterium</i> , bacterias propionicas, <i>brevibacterium</i>

2.4.2.2. Gram negativas

En este grupo están los organismos eliminan el colorante primario y se tiñen con el colorante secundario (safranina), los cuales al finalizar son de color rojo y se los conoce como Gram negativas (Moreno, Diez, García , Menes, Gutiérrez, & Polledo, 2007). En la Tabla 8 se exponen algunos de los microorganismos Gram negativos.

Tabla 8. Descripción de microorganismos Gram negativos

Microorganismo	Descripción
Enterobacterias	Se encuentran en el intestino de los mamíferos, pueden ser de origen fecal. Causan enfermedades infecciosas.
	<i>Escherichia Coli</i> Productora de Indol, gas y ácidos orgánicos como el láctico.
	<i>Cloaca o enterobacter</i> Productora de gas y débil acidificación.
Micobacterias	Bacilo que causa la tuberculosis de aspecto filamentosos.
Acromobacterias	Son aerobias, saprófitas y de actividad enzimática reducida
	<i>Alcaligenes</i> Proceden del suelo, estiércol, agua, hierba y polvo; en donde el pH es básico
	<i>Flavobacterium</i> Generan pigmentos de color amarillo.
Diversas	Causan acciones proteolíticas y lipolíticas, Causadas por la adición de aguas no potables.
	<i>Pseudomonas</i>
	<i>Brucella</i> Es patógena para el ser humano y animales. Causa la enfermedad de brucelosis.

En la Figura 2 se esquematiza el proceso de tinción Gram y como varían las coloraciones.

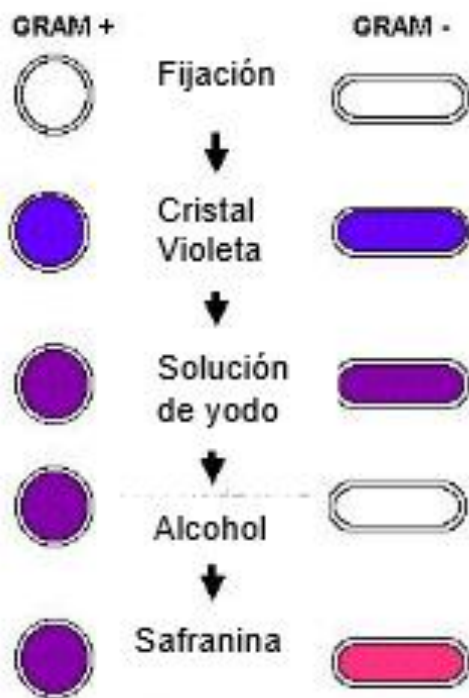


Figura 2. Proceso de la tinción Gram

2.5. CANTÓN MEJÍA

2.5.1. HISTORIA

El cantón Mejía se fundó el 23 de julio de 1883, pertenece a la provincia de Pichincha ubicado al suroriente de la misma y con una superficie actual de 1.459 km², su cabecera cantonal es Machachi.

En cuanto a la limitación se estructura de la siguiente manera, como se observa en la Figura 3: al norte, Cantón Rumiñahui, Distrito Metropolitano de Quito y Provincia Santo Domingo; sur la Provincia De Cotopaxi; este la

Provincia de Napo y oeste la Provincia de Cotopaxi y cantón Santo Domingo (Gobierno de la provincia de Pichincha, 2012).

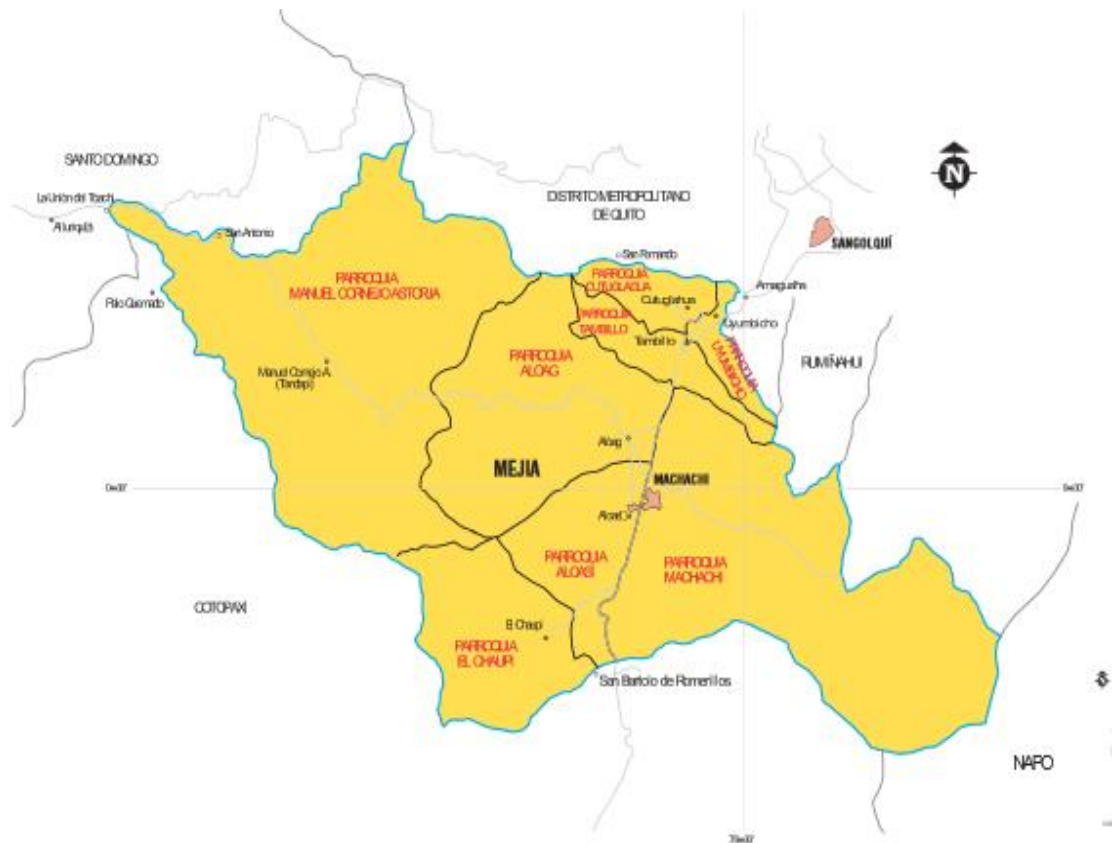


Figura 3. Mapa geográfico del cantón Mejía

El cantón Mejía está constituido por las siguientes parroquias rurales: Aloag, Aloasí, Manuel Cornejo Astorga (Tandapi), Cutuglagua, Chaupi, Tambillo y Uyumbicho (Municipalidad de Mejía , 2015).

El cantón principalmente está dedicado a la producción agrícola y ganadera (SENPLADES, 2014). En la Tabla 9 se detalla los porcentajes de población y las actividades que ejercen.

Tabla 9. Principales actividades económicas del cantón Mejía.

Actividades	Población (%)
Agricultura, ganadería, sicultura y pesca	23.6
Comercio al por mayor y menor	16.7
Industrias manufactureras	15.7
Transporte y almacenamiento	9.1
Construcción	7.4
Actividades de los hogares como empleadores	4.2
Administración pública y defensa	4.1
Enseñanza	4.0
Alojamiento y servicio de comidas	4.0
Servicios administrativos y de apoyo	2.9
Otros	8.3

(SENPLADES, 2014)

Debido a la producción ganadera se han asentado algunas empresas alimentarias, especialmente de tipo lácteas con lo que aprovechan la materia prima que se produce y se genera mano de obra local.

2.5.2. PARROQUIA ALOAG

Aloag es una de las parroquias del cantón Mejía, ubicada a 33 km de Quito y con una superficie de 235.47 km². En la parroquia hay 14483499 habitantes aproximadamente 26.8 % hab/ km² (Bohórquez, 2012).

Sus límites son: norte el Distrito Metropolitano de Quito, sur la Parroquia Aloasí, al este Parroquias Machachi y Tambillo y al oeste Parroquia Manuel Cornejo Astorga. Como se ve en la Figura 4.

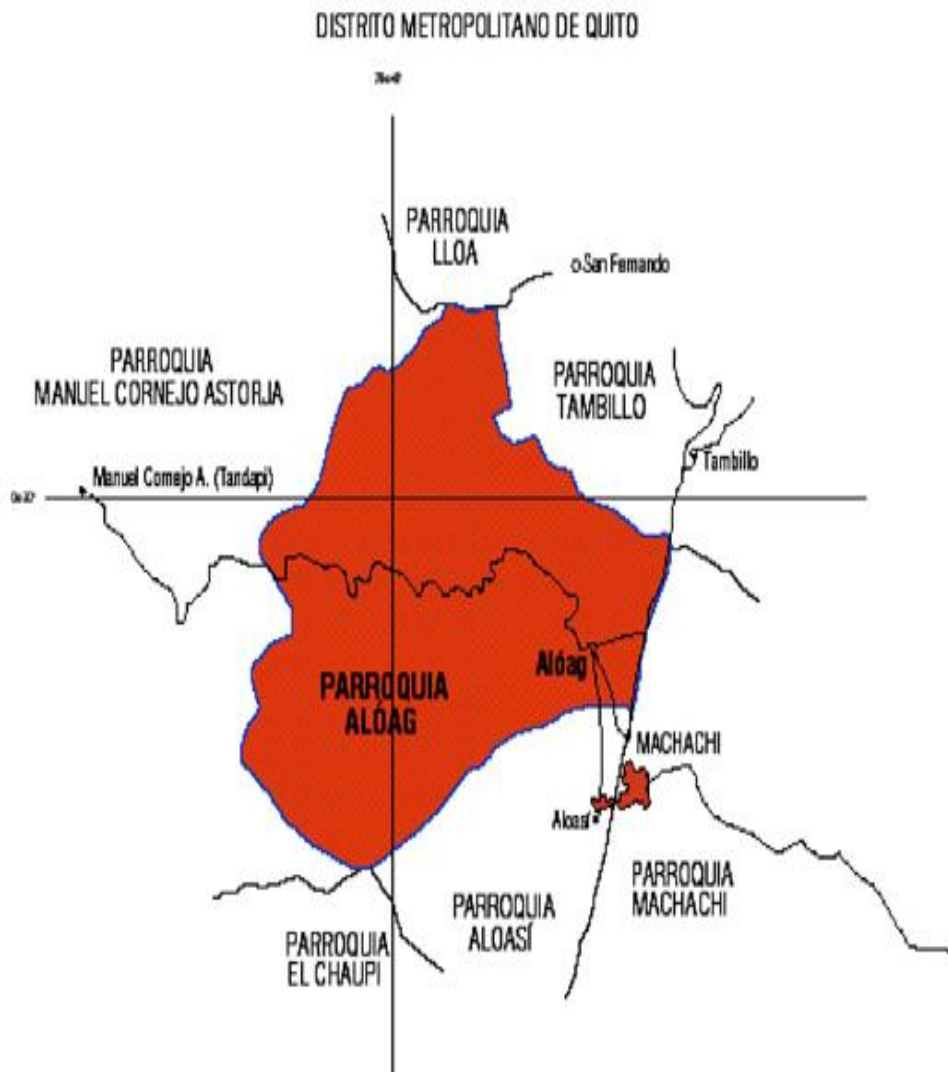


Figura 4. Mapa geográfico de la parroquia Aloag

Las actividades preponderantes en la parroquia son las agroproductivas, ganadería y agricultura. Muchos habitantes se han dedicado a producir alimentos de forma artesanal especialmente leche y sus derivados, no obstante la demanda es reducida e inconstante, lo que acarrea en pérdidas económicas para los productores.

En cuanto a la agricultura se cultiva: maíz, fréjol, habas, papas, mellocos, alverja, zanahoria, remolacha, lechuga (Municipalidad del cantón Mejía, 2011).

3. METODOLOGÍA

3. METODOLOGÍA

3.1. LEVANTAMIENTO DE INFORMACIÓN

En primera instancia se contactó con la asociación de los productores lácteos del cantón Mejía, a través de algunas reuniones se socializó los objetivos del proyecto y los beneficios en sus empresas.

Posteriormente se formuló una encuesta que constó de dos secciones, la primera parte se enfocó en los datos de la empresa como: nombre, responsable y cargo que desempeña, ubicación geográfica, parroquia y contactos. La segunda parte de la encuesta se orientó a conocer los siguientes aspectos: producción diaria de materia prima, proveedores y parámetros de elección de los mismos, instalaciones para análisis de recepción de materia prima y pruebas de andén, los tipos de productos que procesan, descripción del proceso para obtención de queso fresco, cantidad de suero lácteo que obtienen y el destino que le dan a este subproducto. En el Anexo I se presenta la encuesta.

Se identificó a los productores en un mapa geográfico del cantón en donde se dividió a los productores por parroquias (Machachi, Aloag, Aloasí, Puichic y Gütig) y se recopiló la información general para tener una base de datos.

Se tabuló los datos y se analizó los resultados del cantón, en el presente trabajo se realizó con los productores lácteos de la parroquia Aloag que se los codificó como: LAA, LAC, LAE y LAV.

3.2. ESTUDIO MICROBIOLÓGICO

3.2.1. MUESTREO

Se tomó en vasos estériles de 250 mL (previamente rotulados) dos muestras de suero de leche de cada empresa, mientras se llevaba a cabo el proceso de moldeado del queso.

Dependiendo del caso el suero se recolectó manejando dos procedimientos: sí el suero se desechaba por medio de una llave de paso se dejó correr unos segundos el líquido y se llenó el vaso. La otra opción, sí el suero estaba en contenedores como baldes de plástico o acero inoxidable, se tomó desde el centro del recipiente introduciendo solo un lado del vaso de muestra. Por seguridad y para evitar contaminación una vez cerrado el vaso, se lavó exteriormente con agua, para eliminar residuos de suero. Finalmente se colocó las muestras en un cooler con temperaturas aproximadas de 4 - 5 °C y se transportó y conservó en congelación de menos 80°C en los laboratorios de microbiología de la Universidad Tecnológica Equinoccial y la Universidad Politécnica Salesiana.

3.2.2. DILUCIONES SUCESIVAS

Se preparó caldo lactosa y se transfirió 9 mL a cada tubo falcon y se esterilizó. Con una micropipeta se absorbió 1 mL de suero de leche de la muestra y se depositó en un tubo rotulado como 10^{-1} , del cual se tomó otra vez 1 mL y se transfirió a la dilución 10^{-2} , y así sucesivamente hasta el tubo 10^{-6} , en algunos casos las diluciones requirieron de menos tubos. Se debe acotar que cada vez que se tomó y depositó líquido en los tubos, se homogenizó la solución.

3.2.3. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

Se colocó el agar en agua destilada y se calentó en constante agitación para disolver completamente el polvo, una vez realizado este paso se esterilizó la solución a 121 °C por 15 minutos. A una temperatura de 45 °C se dispensó en cajas mono Petri dentro de la cámara de flujo y con mecheros. Este proceso fue general para la preparación de todos los medios de cultivo.

En la Tabla 10 se puntualiza algunos aspectos de especificidad en cuanto a la preparación y condiciones de incubación de los agares que se utilizaron en el estudio y con la misma preparación base que se explicó en el primer párrafo de esta sección.

Tabla 10. Aspectos para la preparación de medios de cultivos

Agar	Microorganismo	Parámetro de preparación	Condiciones de incubación
MacConkey	Aerobios mesófilos	50 g en 1L	37°C / 24 h
Tryptic Soy Agar (TSA)	Enterobacterias E.coli	40 g en 1L	37°C / 24h
Agar Salmonella Shigella (SS)	Samonella <i>Campylobacter</i>	60 g en 1L	37°C / 24h
Agar Sangre	<i>Staphylococcus</i> Estafilococos	40 g en 1L	37°C / 24h
Agar Oxford	Listeria	54 g en 1L	37°C / 24h
Manitol Egg Yolk Polymyxin Agar (MYP)	Bacillus cereus	46 g en 900 mL	37°C / 24h
Yeast Extract Peptone Dextrose Agar (YPD)	Levaduras	65 g en 1L	25°C / 72 h
Sabouraud Dextrose Agar (SDA)	Hongos	65 g en 1L	25°C / 72 h

3.2.4. TÉCNICA DE SIEMBRA EN PLACAS PETRI

Se preparó asépticamente el ambiente de siembra, se limpió la mesa de trabajo con alcohol a 96 °, además se usó mecheros Bunsen para trabajar en el bulbo de fuego de 10 cm de diámetro y evitar contaminaciones. En la superficie se colocó vasos de precipitación con alcohol de 96 °.

La técnica de siembra que se manejó fue por extensión con el uso del asa de vidrio endoble de Digrafsky en superficies sólidas. Se manejó los siguientes pasos: primero se esterilizó las puntas de las micropipetas y el asa en el autoclave, consecutivamente al asa se la sumergió en un vaso con alcohol al 96 °.

Con la micropipeta se tomó 0.1 mL de la muestra de suero de leche inicial o la dilución (anticipadamente homogenizado) y se depositó en el centro de la placa, luego se tomó el asa y se pasó por el fuego tres veces, se dejó enfriar agitando suavemente dentro del bulbo de fuego, finalmente se extendió el líquido depositado en toda la superficie, se cerró la placa Petri y la asa se depositó en el vaso con alcohol. Se hizo por triplicado cada muestra tanto por siembra directa y dilución.

Se incubó las cajas Petri según los medios de cultivo que se usó en el proceso.

3.2.5. RECuento

El recuento se llevó a cabo visualmente con la lámpara de luz fluorescente y lupa, además del empleo de un marcador para contabilizar correctamente y sin dobles conteos. El rango que se amparó fue de 30 a 300 UFC por placa para las bacterias y de 10 a 150 colonias para el caso de levaduras y hongos

filamentosos. A los resultados finales se les aplicó dos fórmulas la primera ecuación 1, expresó las unidades formadoras de colonias por unidad de volumen (en el caso 1 mL).

$$\text{UFC/mL} = \frac{(\text{Nc} * \frac{1}{\text{FD}} * \frac{1}{\text{v}})}{\text{p} * \text{FH}}$$

[1]

En donde:

Nc= Número de colonias en una caja.

FD= Factor de dilución que corresponden a la dilución donde se tomó la muestra con la que inocula la caja.

V= Volumen inoculado en cada caja.

P= peso de la muestra húmeda.

FH= Factor de corrección de humedad.

Con los datos que se obtuvo se hizo un gráfico para conocer cuáles fueron los microorganismos de mayor crecimiento y sus posibles causas.

La segunda ecuación 2, determina el número de microorganismos totales en la muestra.

$$N = \frac{\Sigma c}{V (n_1 + 0.1 n_2) d}$$

[2]

En donde:

N= Número de unidades formadoras de colonias por gramos o mililitro.

Σc = Sumatoria de todas las colonias contadas en todas las placas retenidas en dos diluciones sucesivas.

V= Volumen del inóculo aplicado a cada placa en mililitro.

n_1 = Número de placas retenidas en la primera dilución.

D= Nivel de dilución correspondiente a la primera dilución retenida.

Con la ecuación 2 se comparó los resultados de cada empresa con normas técnicas y estudios realizados anteriormente.

3.3. TINCIÓN GRAM

De las tres placas que se sembraron de cada agar se tomó una placa con colonias diferenciadas.

Se tomó con el asa de siembra previamente esterilizada una colonia de la placa y se hizo un frotis en un porta objetos limpio al que se le colocó una gota de agua destilada, con la misma asa se extendió el material microbiológico y se fijó por medio del calor hasta que se seque.

El siguiente paso es denominado coloración, en donde se depositó una gota de cristal violeta durante 1 minuto. Se lavó con agua destilada. Después se colocó el mordiente, en este caso se usó lugol durante 1 minuto y se lavó con agua destilada.

La decoloración se realizó con alcohol de 96 °C y se lavó nuevamente con agua destilada. Se efectuó en 1 minuto la recoloración con la safranina y se volvió a lavar el porta objetos y se dejó secar.

Se observó al microscopio hasta enfocar la muestra y se añadió una gota de aceite de cedro sobre la preparación para lograr la inmersión y se observó las estructuras y coloración. Finalmente se limpió el lente con xilol.

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.2. LEVANTAMIENTO DE INFORMACIÓN

Los resultados tabulados arrojaron los siguientes aspectos. Las empresas encuestadas del cantón Mejía se encasillan en el MIPRO (Ministerio de Industrias y de Productividad) como artesanales en un 95 %, y 5 % las pequeñas empresas, como se observa en la Figura 5 no hubo productores lácteos que se categorizan en microempresa, mediana empresa y gran empresa. En la parroquia Aloag los cuatro productores son de tipo artesanal.

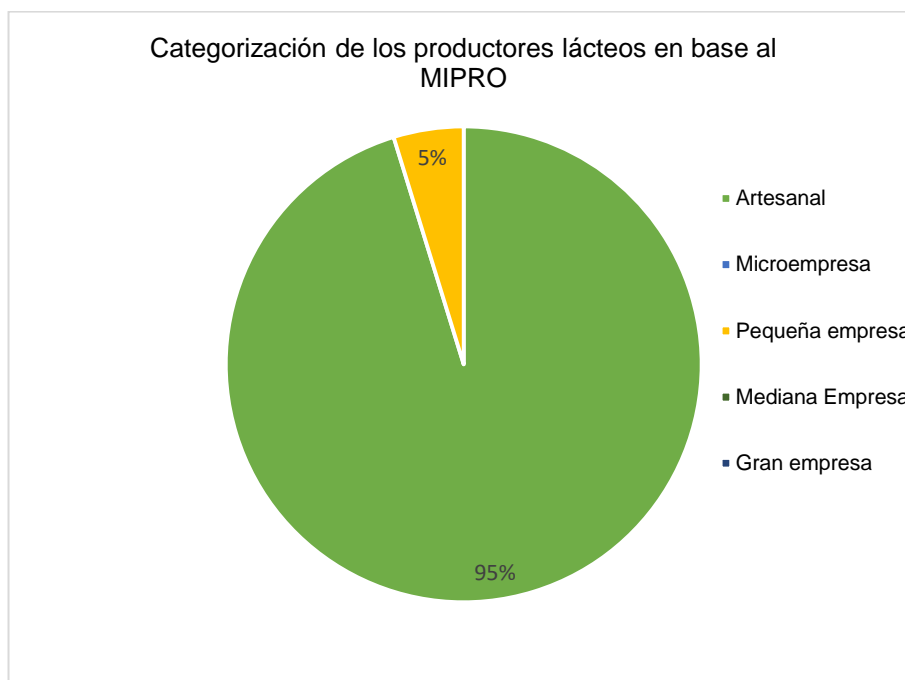


Figura 5. Categorización de los productores en el MIPRO

La tabulación de las preguntas aplicadas se encuentra en el Anexo II. Se conoció que el 76 % de los productores lácteos procesan diariamente de 500 a 1000 L de leche cruda, de 1000 a 5000 L el 14 % y el 10 % restante de 0 a 500 L.

Las respuestas en cuanto a la cantidad de proveedores de leche que manejan son variadas: el 43 % tienen de 21 a 30 proveedores, 38 % menos de 10, de 11 a 20 el 9 % y el 10 % sobrante de 31 a 50 % y nadie tiene más de 50 proveedores. Los parámetros decisivos para seleccionar a los proveedores se basan en su mayoría por calidad 62 %, el precio 21 %, cantidad 9 % y disponibilidad 9 %. Por lo tanto a los productores les interesa la calidad de su materia prima, sin embargo el 95 % no posee un laboratorio de recepción de la leche (el productor de la parroquia Aloag, LAV si posee un laboratorio).

A pesar de la carencia de un laboratorio establecido en las plantas de producción, se realizan pruebas de andén. Los productores emplean algunas de las metodologías propuestas en la encuesta o varias al mismo tiempo para confirmar la calidad de la leche. El 52 % realiza dos tipos de ensayos, el 38 % se basa en tres y el 10 % de las empresas usa un solo ensayo. De estas pruebas la más utilizada es la densidad con el 38 %, le sigue la acidez con 34 %, luego con el 24 % pruebas de alcohol y el 2 % tanto para pH y ebullición, ninguno de los encuestados aplica la reductasa u otro método.

El 66 % de los productores elaboran queso fresco pasteurizado, el 19 % leche pasteurizada; ambos diariamente. El yogurt y los quesos maduros se procesan esporádicamente en un 6 % y 9 % respectivamente.

Todos los productores procesan queso fresco y es su principal producto de venta. Se observó que tienen la misma elaboración global para el queso fresco, con ciertas variantes en la recepción, en los tiempos y temperaturas especialmente en la pasteurización.

En la operación de desuerado los productores afirmaron obtener de 0 a 500 L y de 500 a 1000 L de suero de leche ambas con el 43 % y un 14 % de 1000 a 5000 L de suero con frecuencia diaria. El 50 % del suero de leche es desechado, siendo así un foco de contaminación ambiental para la zona, el

32 % lo aplica para la alimentación animal y un 18 % lo vende a grandes empresas aledañas. De los productores que desechan el suero el 82 % lo hace en el alcantarillado, un 9 % en acequias y los restantes indicó en otros.

4.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

4.2.1. ANÁLISIS DE MUESTRAS DIRECTAS EN PLACA

Se estudió la microbiología de once microorganismos: aerobios mesófilos, *E.coli*, *B.cereus*, *Salmonella*, *Listeria spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococos*, *Staphylococcus*, *Campylobacter*, hongos filamentosos y levaduras.

En la Tabla 11 se muestra con signos positivos los microorganismos que crecieron en el medio de cultivo y con signo negativo los microorganismos ausentes en el estudio microbiológico del suero de queso fresco.

Los medios de cultivo del productor LAE presentaron crecimiento de los once microorganismos. En los análisis la empresa LAA hubo el crecimiento de todos los microorganismos a excepción de *Campylobacter*. Mientras tanto en los productores lácteos LAC y LAV hubo ausencia total para el desarrollo las bacterias *Staphylococcus* y *Campylobacter*, sin embargo el resto de análisis arrojaron presencia del resto de microorganismos.

Tabla 11. Presencia y ausencia de microorganismos en siembra directa.

Microorganismos	Productores lácteos			
	LAA	LAC	LAE	LAV
Aerobios mesófilos	+	+	+	+
<i>E.coli</i>	+	+	+	+
<i>B.cereus</i>	+	+	+	+
<i>Salmonella</i>	+	+	+	+
<i>Listeria spp.</i>	+	+	+	+
<i>Listeria monocytogenes</i>	+	+	+	+
<i>Streptococcus</i>	+	+	+	+
<i>Staphylococcus</i>	+	-	+	-
<i>Campylobacter</i>	-	-	+	-
Hongos filamentosos	+	+	+	+
Levaduras	+	+	+	+

La simple presencia de algunos géneros bacterianos como la *Salmonella* y *Listeria* son resultados negativos puesto que en los requisitos microbiológicos de NTE INEN 2594 de suero de leche, exige ausencia absoluta de dichas especies por ser causantes de graves enfermedades transmitidas por alimentos y afectar a las poblaciones más susceptibles como mujeres embarazadas, niños y ancianos.

4.2.2. ANÁLISIS DEL MÉTODO DE DILUCIONES

Después de haber enriquecido las muestras de suero con lactosa, se generó un ambiente propicio con los nutrientes idóneos para el crecimiento de los microorganismos evaluados.

4.2.2.1. Productor Lácteo LAA

La concentración más alta que tuvo el productor LAA, fue en el género de bacterias *Streptococos* con 1.48×10^3 UFC/ml, la cual podría provenir de las fosas bucales y en algunos casos de heces fecales. En algunos casos son causantes de mastitis en las ubres de los bovinos.

La proliferación de 1.96×10^2 UFC/ml de levaduras, podría ser causada por temperaturas de 20 °C a 30 °C que hay dentro del área del proceso y la elevada actividad de agua en las queserías, lo cual favorece al crecimiento (Celis & Juárez, 2009).

La cuantificación de aerobios mesófilos de 3.55×10^2 UFC/ml denota insuficiencia en el tratamiento térmico de la leche, a su vez se relaciona con los resultados en *E. coli* que demuestra contaminación entérica en LAA puesto que se determinó 4.50×10^2 , se presume una manipulación de alimentos inadecuada y poco higiénica ya sea por parte de los trabajadores, materias primas o equipos sucios durante el proceso.

La contabilización de *Salmonella* de 2.80×10^2 está ligada a los aerobios mesófilos y *E.coli*, porque la *Salmonella* igualmente vive en el tracto intestinal de los animales y se debe a una contaminación de tipo fecal, otra razón de su presencia es manipuladores que porten la bacteria en sus manos. Sin embargo la *Salmonella* no soporta una temperatura mayor de 46.2 °C como máximo, la pasteurización se lleva a cabo a 62 °C por 30

minutos, lo cual podría significar que los procesos de pasteurización están siendo llevados a cabo erróneamente.

B. cereus con 2,51 E+8 UFC/ml. El *B. cereus* es una bacteria que por lo general muere en los tratamientos térmicos, sin embargo si la bacteria llegó al final de su crecimiento produce toxinas, las cuales no son eliminadas mediante un tratamiento térmico, puede darse el caso de una pasteurización deficiente o que no cumplió con los requerimientos óptimos. Otra razón para la incidencia de *B. cereus* se la relaciona a vacas productoras de leche, enfermas con mastitis aguda, evidenciando carencia en los controles de la recepción de la materia prima (Robalino , 2011).

La presencia positiva de especies de *L. spp* y *L. monocytogenes* es de 5.55 E+02 y de 8.23 E+03 respectivamente. La listeria es un bacilo Gram positivo de elevada resistencia a temperaturas bajas de (4 a 6 °C), el pH de inhibición de la bacteria es inferior a 4.0, sin embargo el queso fresco oscila entre 6.2 a 6.6, además que la actividad de agua propia del proceso de quesería de 0.96 – 0.98 favorecen el desarrollo (Instituto Nacional de Salud , 2011).

Existe ausencia total de *Staphylococcus*, *Campylobacter* y Hongos filamentosos. Lo dicho anteriormente se presenta en la Figura 6.

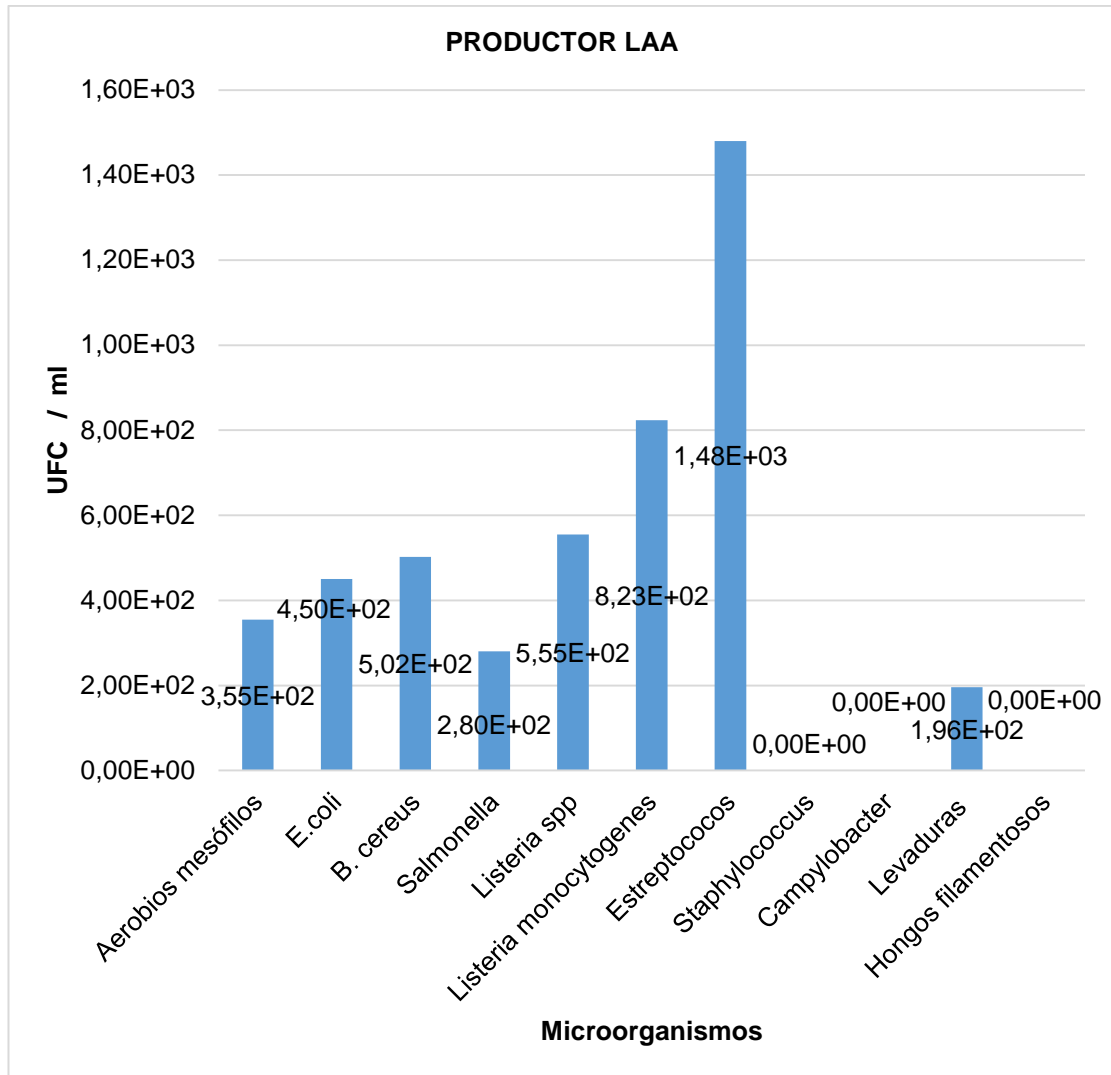


Figura 6. Concentración de microorganismos por ml de muestra de dilución, en el productor LAA

En la Tabla 12 se especifica los microorganismos totales que se obtuvo en las muestras.

Tabla 12. Concentración total de microorganismos en el productor LAA

Microorganismos	mos/ml
Aerobios mesófilos	6.09 E+06
<i>E.coli</i>	9.33 E+06
<i>B. cereus</i>	1.12 E+08
<i>Salmonella</i>	1.70 E+04
<i>Listeria spp</i>	3.36 E+04
<i>Listeria monocytogenes</i>	7.48 E+05
<i>Streptococos</i>	1.60 E+05
<i>Staphylococcus</i>	0,00 E+00
<i>Campylobacter</i>	0,00 E+00
Levaduras	4.09 E+07
Hongos filamentosos	0,00 E+00

Según la NTE INEN 2594 de suero de leche líquido específica que el recuento de microorganismos aerobios mesófilos debe comprender un dato menor a 100 000 UFC/ml para clasificarse en un nivel aceptable de calidad, el productor LAA no cumple con los requerimientos, con un resultado de 6.09 E +06. La presencia de *E.coli* igualmente no es conforme a la Norma Técnica Ecuatoriana que es de menos 10 UFC/ml, en el estudio se cuantificó en 9.33 E+06 UFC/ml.

Para el caso de *Salmonella* y *Listeria* la exigencia de la NTE INEN 2594 es de ausencia absoluta, en los análisis se detectó datos sumamente elevados detallados en la Tabla 12.

El productor LAA, en comparación a la norma ecuatoriana concuerda con la presencia de *Staphylococcus aureus* que dio negativo y la norma permite hasta 100 como dato M (índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad), en este parámetro se categorizó en buena calidad.

Según la norma COVENIN 3821 de queso fresco recomienda en cuanto a levaduras y hongos filamentosos un límite máximo 1.0×10^2 UFC/ml, el proveedor supera el rango con 4.09×10^7 en levaduras. Empero la norma NMX-F-721-COFOCALEC establece que no hay un rango para hongos filamentosos y levaduras debido a que no causan graves enfermedades alimenticias. Tanto la certificación Kosher de suero de leche y NOM-243-SSA1 en queso fresco postulan como requisito de 50 a 500 UFC/ml, por lo tanto en cuanto a levaduras el productor está infringiendo lo establecido, pero cumple con la cantidad de hongos, debido a un crecimiento menor a 50 UFC/ml siendo así un nivel de buena calidad.

La certificación Kosher postula que los lactosueros deben tener un rango entre 100 a 1000 UFC/ml de *B.cereus*, lo cual el productor LAA excede significativamente pues contiene la siguiente concentración de microorganismos 1.12×10^8 UFC/ml.

La presencia de *Streptococos* es relativamente baja de 1.60×10^5 UFC/ml, sin embargo no está dentro del control de calidad de las normas IRAM 14005, que estipulan una tolerancia cero para *Streptococcus agalactiae* (causante de mastitis) y de menor a 500 UFC/ml para *Streptococos* no *agalactiae* como: *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus bovis* y *Streptococcus uberis* (Lucas & Lucas , 2014).

4.2.2.2. Productor Lácteo LAC

En la Figura 7, es notable que la mayor carga microbiana se dio en el ensayo de hongos filamentosos con un crecimiento de 2.74×10^3 UFC/ml; es común una alta población de hongos cuando el crecimiento de otros competidores como las bacterias ocupan un menor espacio en el sustrato y están en menor cantidad (Siciliano, 2010).

El crecimiento de aerobios mesófilos tuvo un crecimiento reducido en LAC con $3.06 \text{ E}+02$ UFC/ml, siendo así un indicador probablemente relacionado con la presencia de microorganismos patógenos que se encontró en la muestra, con procedencia ya sea humana o animal. Esta premisa se corroboró con la presencia positiva y elevada de *Salmonella* $1.03 \text{ E}+03$ UFC/ml, *Listeria spp* $9.77 \text{ E}+02$ UFC/ml y *L. monocytogenes* $9.80 \text{ E}+05$ UFC/ml. En conjunto con la cantidad de colonias por ml de *E.coli* podría revelar una elaboración de queso con bajos aspectos sanitarios o manipuladores infectados.

Hubo $3.94 \text{ E}+02$ UFC/ml pertenecientes a *Streptococos* que resultan de una contaminación humana durante la elaboración, se puede dar debido a la falta de uso de mascarillas, porque este género está en la boca, fosas nasales y manos de personas portadoras. De *B.cereus* la presencia fue de $3.86 \text{ E}+02$ UFC/ml podría deberse a la falta de limpieza de los recipientes de almacenamiento y falta de refrigeración en la leche.

Respecto a las levaduras y hongos filamentosos se cuantificó $4.48 \text{ E}+02$ UFC/ml y $2.74 \text{ E}+03$ UFC/ml correspondientemente, la presencia puede deberse a la utilización tanto de levaduras y de hongos filamentosos como agentes de fermentación para producir el queso. Mientras que no se contabilizó presencia de *Campylobacter* y *Staphylococcus*.

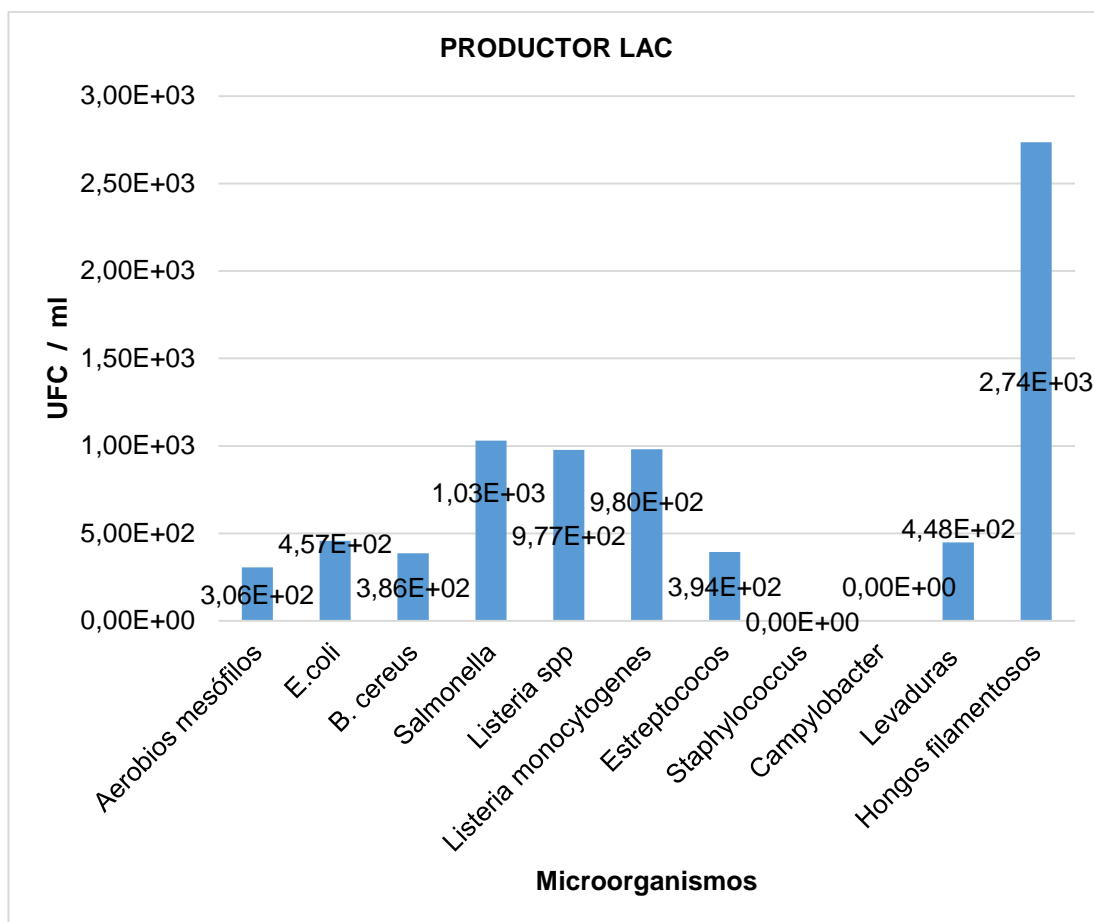


Figura 7. Concentración de microorganismos por ml de muestra de dilución, en el productor LAC

Los resultados expresados en la Tabla 13 están fuera de los rangos estipulados por la NTE INEN 2594 de suero de leche líquido, específicamente en los recuentos de aerobios mesófilos, *E.coli*, *Salmonella* y *Listeria*. En el género *Staphylococcus* no hubo crecimiento por lo tanto cumple con la norma.

La cantidad de hongos filamentosos $8.62 \text{ E}+03$ y levaduras $1.07 \text{ E}+08$ que se cuantificó excede los parámetros de la norma COVENIN 3821 de queso fresco, en la cual el límite máximo para ambos es de $1.0 \text{ E}+03$, igualmente sobrepasa la tolerancia en la certificación Kosher en cuanto a *B.cereus* que es de 100 a 1000 UFC/ml, en la muestra se obtuvo un crecimiento de $1.11 \text{ E}+08$ UFC/ml. En relación a la concentración de total en la muestra de

Estreptococos la norma IRAM 14005, dicta que la tolerancia es de un crecimiento menor a 500 UFC/ml, en las muestra que se evaluó creció 7.45 E+07 UFC/ml en esta especie.

Tabla 13. Concentración total de microorganismos, en el productor LAC

Microorganismos	mos/ml
Aerobios mesófilos	8.18 E+07
<i>E.coli</i>	8.30 E+08
<i>B. cereus</i>	1.11 E+08
<i>Salmonella</i>	1.29 E+05
<i>Listeria spp</i>	8.88 E+05
<i>Listeria monocytogenes</i>	1.10 E+05
<i>Estreptococos</i>	7.45 E+07
<i>Staphylococcus</i>	0.00 E+00
<i>Campylobacter</i>	0.00 E+00
Levaduras	1.07 E+08
Hongos filamentosos	8.62 E+03

4.2.2.3. Productor Lácteo LAE

A través de los análisis se supo que hay 5.80 E+ 02 UFC/ml de *B.cereus* y 2.23 E+02 de aerobios mesófilos. Como se detalló anteriormente el *B.cereus* puede provenir de glándulas mamarias infectadas con mastitis que dejaron cepas vegetativas en la leche que no se logró destruir durante la pasteurización. Los aerobios mesófilos nuevamente demuestran elevados problemas sanitarios que a la par son confirmados al encontrar bacterias patógenas en las muestras tales como: *L. spp*, *L. monocytogenes* y *Salmonella*, que son las de mayor crecimiento en el estudio. Es importante acotar que la presencia de aerobios mesófilos y *E.coli* no siempre conllevan

a la presencia positiva de bacterias que causen serias enfermedades toxiinfecciones.

En la Figura 8 se puede observar el crecimiento de *Streptococcus* siendo así un indicador de materia fecal y contaminación post-tratamiento térmico que se podría dar principalmente por falta de higiene en manipuladores y equipos, además de una posible ausencia en la utilización de mascarillas que evitan la dispersión de secreciones humanas de fosas nasales y boca. Al existir problemas de aseo personal en los obreros es común la cantidad de *E.coli* 4.48×10^2 UFC/ml en el estudio microbiológico. Otro punto importante es que la muestra de suero de leche se recolectó de tinajas de plástico con aspecto antihigiénico siendo así un posible foco de contaminación.

Respecto al género *Streptococcus* el recuento final es de 7.45×10^7 UFC/ml, dato que no cumple con las normas argentinas, en Ecuador dicho microorganismo no es avalado en los estudios. Sin embargo es un indicador de posibles enfermedades en las mamas de los bovinos, cuando dichos animales no son separados de la producción de leche.

La reproducción de hongos fue un dato bajo de crecimiento del 4.00×10^2 UFC/ml en comparación a los otros ensayos en el productor LAE, la presencia se puede deber a una ineficiente limpieza en los utensilios y equipos, provocando una acumulación de hongos en los mismos.

El recuento de levaduras fue el dato más reducido para LAE de 1.74×10^2 UFC/ml podría causarse por un ambiente húmedo durante el proceso de elaboración, en donde la actividad de agua llegue a ser elevada, por otro lado la existencia de levaduras puede darse porque la empresa LAE use algún tipo de levadura con importancia alimentaria para aumentar la capacidad de fermentación en la lactosa como por ejemplo *Kluyveromyces marxianus* conocida antiguamente como *Saccharomyces fragilis* (Camacho,

y otros, 2009). No hubo recuento de *Staphylococcus* y *Campylobacter*, en vista de una ausencia total.

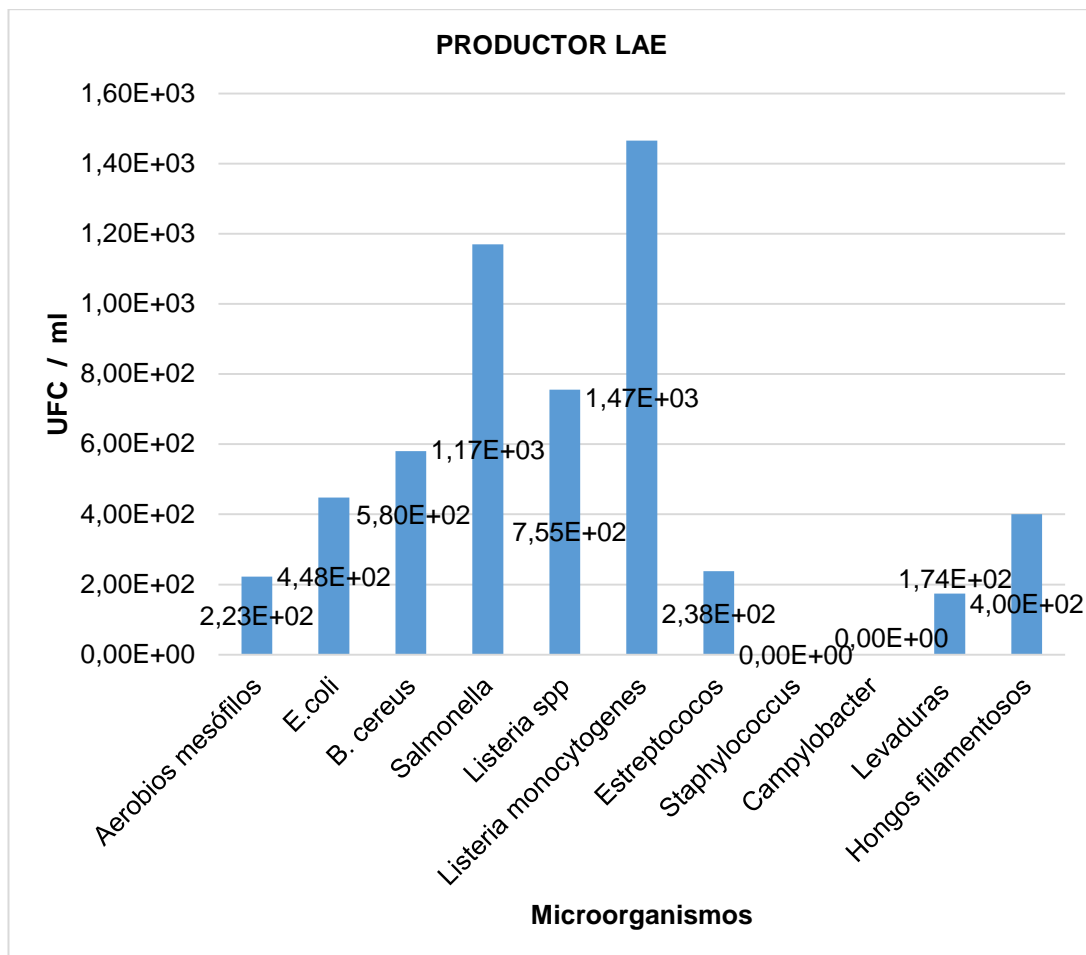


Figura 8. Concentración de microorganismos por ml de muestra de dilución, en el productor LAE

El productor lácteo LAE, en base a los resultados que se muestran en la Tabla 14, está fuera de los rangos estipulados por la norma NTE INEN 2594, en los siguientes microorganismos: aerobios mesófilos y coliformes como E.coli. Hubo presencia positiva de *Salmonella* y *Listeria*, causantes de ETAs siendo así un problema de salubridad. En las normas revisadas como Kosher establecen una tolerancia cero para esta clase microorganismos, debido a las enfermedades graves que causan en los grupos de mayor riesgo (niños, mujeres embarazadas y adultos mayores).

La norma ecuatoriana ampara sólo una parte de los microorganismos que se analizó en el presente estudio, por lo cual se acudió a otras normas internacionales que se manejan. De este modo la certificación Kosher tiene un rango permitido hasta 100 - 1000 UFC/ml en el género *B.cereus*, en el estudio se calculó 1.04 E+07 UFC/ml, por lo tanto está fuera de los parámetros según la certificación Kosher.

Se obtuvo un resultado de 4.52 E+07 UFC/ml en *Estreptococos*, por lo cual no está dentro de la normas IRAM para leche cruda, la cual es menor a 500 UFC/ml. No cumple con los parámetros en el género de levaduras, ya que la referencia en la norma Kosher que es de 50 a 500 UFC/ml. La ausencia de *Staphylococcus* y *Campylobacter* indudablemente concuerdan con cualquier norma.

Tabla 14. Concentración total de microorganismos, en el productor LAE

Microorganismos	mos/ml
Aerobios mesófilos	3.88 E+06
E.coli	7.70 E+06
B. cereus	1.04 E+07
Salmonella	5.21 E+03
Listeria spp	4.58 E+04
Listeria monocytogenes	1.13 E+05
Estreptococos	4.52 E+07
Staphylococcus	0.00 E+00
Campylobacter	0.00 E+00
Levaduras	2.64 E+07
Hongos filamentosos	1.21 E+03

4.2.2.4. Productor Lácteo LAV

El mayor desarrollo microbiano que tuvo el productor lácteo LAV fue en las bacterias *L. spp* con 2.84 E+03 UFC/ml y *L. monocytogenes* 1.24 E+03 UFC/ml, los cuales son niveles altos de recuento microbiológico, lo que indica baja calidad sanitaria en los manipuladores y en el ambiente. Se puede dar el contagio de dichas bacterias ya sea en la materia prima o durante el proceso. En esta empresa la toma de muestra no fue de un recipiente, se tomó directamente del desagüe de la mesa quesera, es decir la flora microbiana del suero podría estar proporcionalmente relacionada al queso.

Los siguientes datos significativos son *E.coli* 7.30 E+02 UFC/ml, aerobios mesófilos con 5.00 E+02 UFC/ml, *Salmonella* 4.80 E+02 UFC/ml y *B. cereus* 3.50 E+02 UFC/ml, lo que puede demostrar la falta de aseo, cumplimiento de temperaturas y tiempos de pasteurización en la materia prima, con lo cual no se logra eliminar a estas bacterias. En el caso del *B.cereus* podría relacionarse con enfermedades de mastitis en las vacas productoras de leche.

En las bacterias Gram positivas, *Streptococcus* se cuantificó con 4.37 E+02 UFC/ml, algunas de las causas probables son un ambiente de trabajo poco óptimo para el procesamiento de alimentos, falta de limpieza diaria en los instrumentos y equipos, además de la ausencia del uso de mascarillas. No se debe descartar que un manipulador directo podría ser el portador de la bacteria.

La concentración elevada de levaduras 2.25 E+02, en este caso se ve afectada por la humedad que existe en el ambiente. Además que el productor lácteo en su elaboración adiciona después de la pasteurización cloruro de sodio para mejorar la estabilidad de la leche, y este tipo de solutos

propician el crecimiento de levaduras porque son osmotolerantes (Pascual & Calderón , 1999).

El crecimiento de hongos en la empresa LAV es $5.90 \text{ E}+02$ UFC/ml es el de menor crecimiento durante el estudio, la contaminación podría darse en los moldes de quesería por mala limpieza y acumulación de estos microorganismos. Por otro lado una probable causa sea deficientes métodos de aseo, sin el uso de agentes desinfectantes, agua caliente, entre otros.

No se desarrolló ninguna colonia en los géneros de *Staphylococcus* y *Campylobacter*. Los resultados expresados anteriormente, se muestran en la Figura 9.

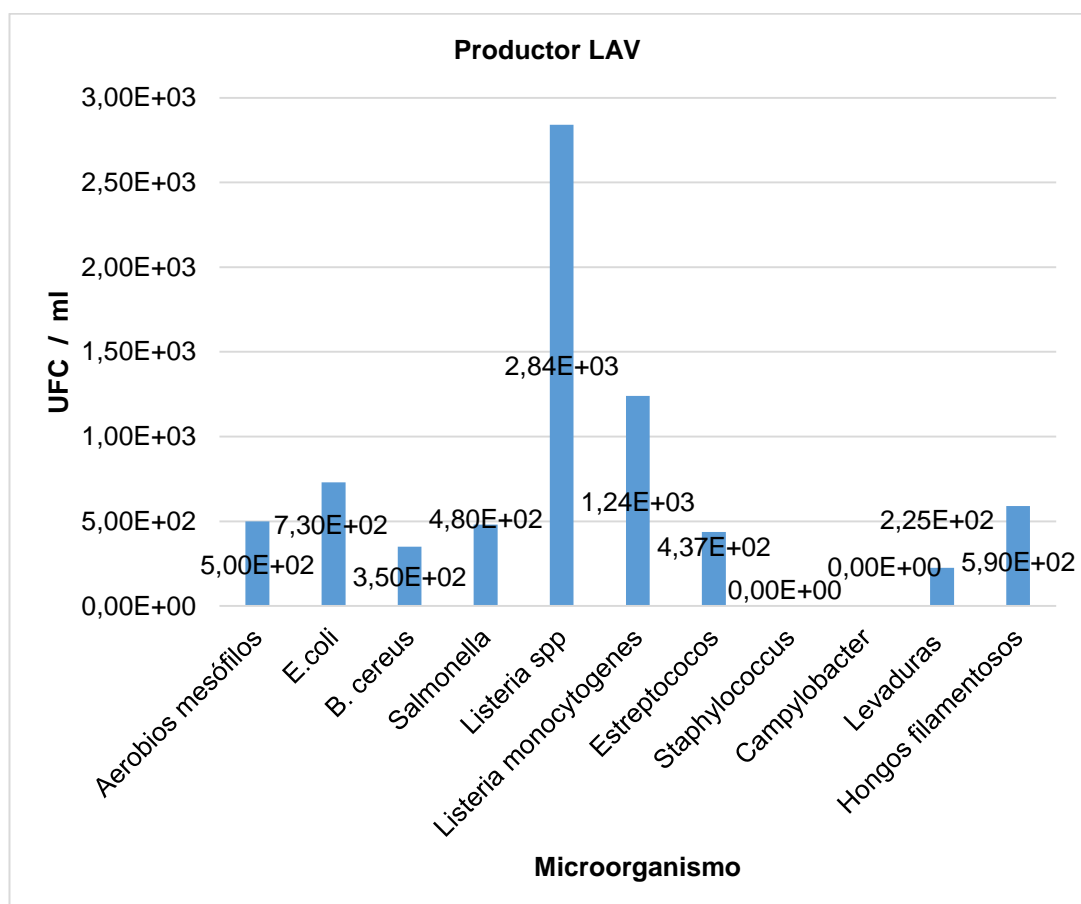


Figura 9. Concentración de microorganismos por ml de muestra de dilución, en el productor LAV

En general el productor LAV presentó según la Tabla 15, varias inconformidades con las normas que se usan a nivel nacional e internacional. Primero el conteo de una sola unidad formadora de colonia de *Salmonella* y *Listeria* representa el rechazo total al producto, en este caso se desarrolló colonias por sobre conteos de 10^4 hasta 10^6 . En consecuencia existe el riesgo de brotes de salmonelosis o listeriosis. Tanto en la norma ecuatoriana como en la internacional, se exige una ausencia total en cuanto a estos dos microorganismos nombrados anteriormente.

La norma mexicana COFOCALEC establece un máximo aceptable para coliformes de 2.00 UFC/ml, los enterococos están catalogados como coliformes en su mayoría. El productor LAV no cumple con la exigencia de esta norma, ni con la norma ecuatoriana que permite hasta 10 UFC/ml, el conteo obtenido en el estudio fue de $1.23 \text{ E}+07$ UFC/ml.

Los aerobios mesófilos y *E.coli* supera los índices máximos permisibles que estipula la NTE INEN de suero de leche líquido. No obstante cumple con un índice de buena calidad con la ausencia total de *Staphylococcus* y también de *Campylobacter*. Existe una alta proliferación de estreptococos de $7.94 \text{ E}+08$ UFC/ml que evidentemente sobrepasa los parámetros de buena calidad de la norma argentina IRAM de leche, que es de ausencia absoluta para las especies que causan mastitis, siendo de menos de 500 UFC/ml. Las levaduras y hongos filamentosos están fuera de los parámetros de las normas COVENIN 3821 que tienen un límite máximo de $1.0 \text{ E}+02$ UFC/ml para ambos microorganismos. Con la certificación Kosher el crecimiento de levaduras y hongos filamentosos, es superior a los límites de buena calidad que maneja la certificación judía que son de 50-500 UFC/ml.

Tabla 15. Concentración total de microorganismos, en el productor LAV

Microorganismos	mos/ml
Aerobios mesófilos	1.15 E+08
E.coli	1.23 E+07
B. cereus	9.91 E+07
Salmonella	7.55 E+06
Listeria spp	1.32 E+04
Listeria monocytogenes	1.46 E+05
Estreptococos	7.94 E+08
Staphylococcus	0,00 E+00
Campylobacter	0,00 E+00
Levaduras	4.09 E+08
Hongos filamentosos	3.58 E+04

4.2.3. TINCIÓN GRAM



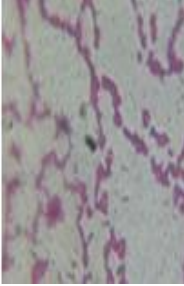
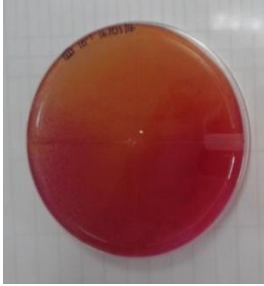
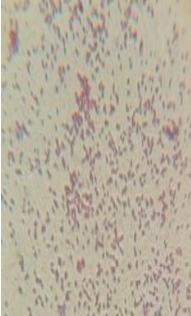
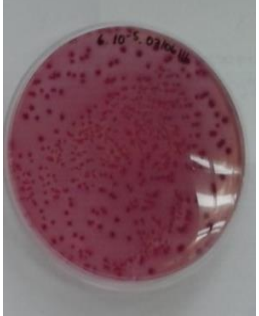

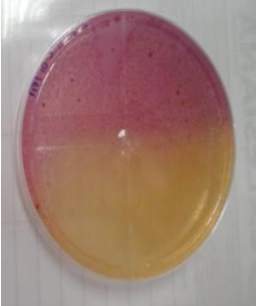
4.2.3.1. Aerobios mesófilos

Las placas Petri con el medio de cultivo MacConkey presentaron una coloración rosada y amarilla (Tabla 16). La coloración rosada del medio se debe al crecimiento de bacterias que fermentan lactosa y producen ácido en el medio. Los microorganismos fueron Gram negativos con una morfología bacilar que es presentada por las bacterias *Escherichia coli* y *Enterobacter*.

La coloración amarilla del medio, se debe a la presencia de bacterias que no fermentan lactosa y formaron colonias amarillentas, blancas o incoloras. Dichas bacterias provocan un incremento del pH del agar, a través de la producción de amoníaco. Este grupo está conformado por la *Salmonella* y *Shigella* (Rojas, 2011). Una vez realizada la tinción Gram se confirmó que la

morfología era bacilar y Gram negativa corroborando la presencia de estas bacterias.

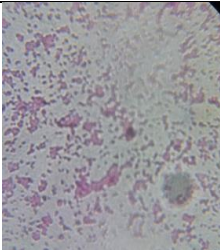


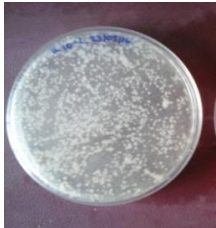
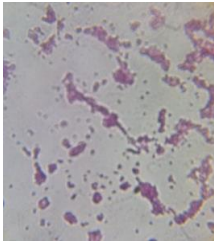

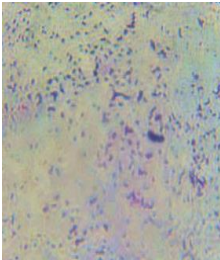

Tabla 16. Crecimiento de aerobios mesófilos en placas Petri y resultados de la tinción Gram

Productor	Tinción Gram	Placa Petri
LAA		
LAE		
LAC		
LAV		

4.2.3.2. E.coli

En la Tabla 17, en las placas Petri con el agar TSA, se observa el crecimiento de colonias blanquecinas, que de acuerdo con Rojas (2011), podrían ser *E.coli*. En la tinción Gram se confirmó que es del tipo Gram negativo y con una morfología bacilar; lo que indica que el crecimiento corresponde a *E. coli*.

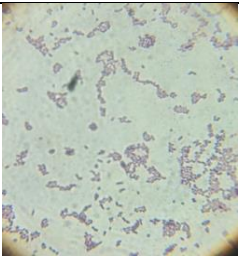
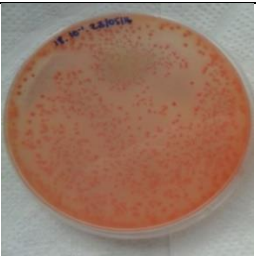
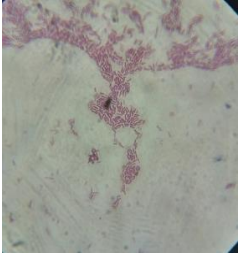

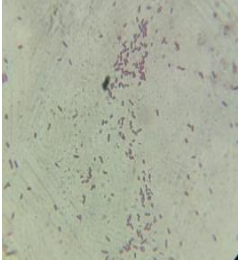

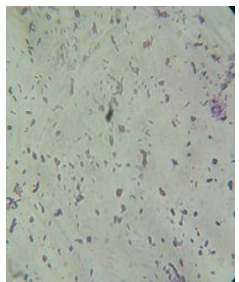
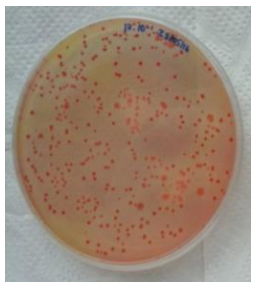
Tabla 17. Crecimiento de *E.coli* en placas Petri y resultados de la tinción Gram

Productor	Tinción Gram	Placas Petri
LAA		
LAE		
LAC		
LAV		

4.2.3.3. *Salmonella*

El agar SS es un medio selectivo para patógenos entéricos, las colonias que se desarrollaron fueron rojizas en un medio anaranjado, denotando así posible presencia de *Salmonella*. Por la tinción, se confirmó la presencia de esta bacteria, con una morfología de bacilo Gram negativo, debido a la coloración rosada, como se muestra en la Tabla 18.



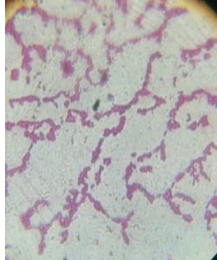
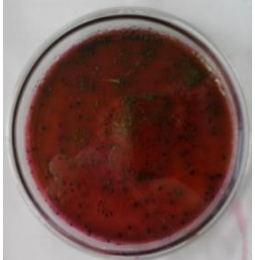
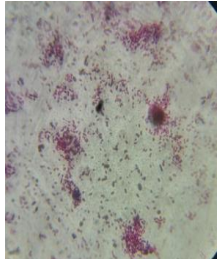
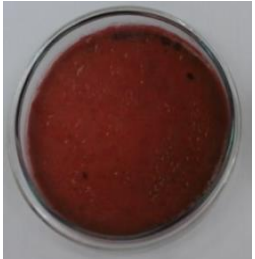
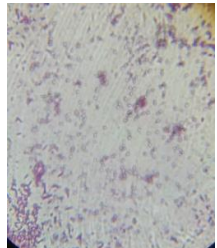

Tabla 18. Crecimiento de *Salmonella* en placas Petri y resultados de la tinción Gram

Productor	Tinción	Placa Petri
LAA		
LAE		
LAC		
LAV		

4.2.3.4. Listeria

En la Tabla 19, se observa que en las placas hubo el crecimiento de colonias negras con un halo verdoso que se identifican como *Listeria monocytogenes* o colonias únicamente negras siendo *Listeria spp*, y en ambos casos fondo rojo. Una vez que se realizó la tinción Gram se constató que el crecimiento corresponde a *Listeria*, microorganismo que se tiñó de una coloración violeta, siendo Gram positivo y presentó la forma de un bacilo.

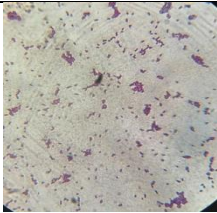

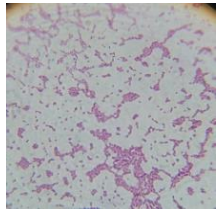
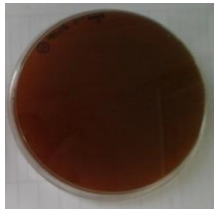
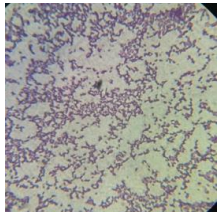
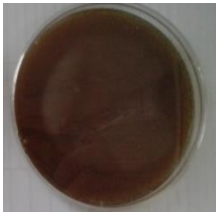
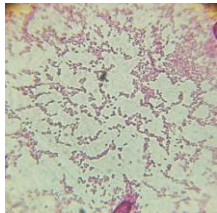
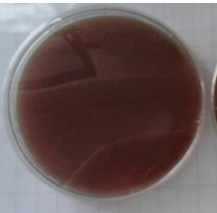
Tabla 19. Crecimiento de *Listeria* en placas Petri y resultados de la tinción Gram

Productor	Tinción	Placas Petri
LAA		
LAE		
LAC		
LAV		

4.2.3.5. Estreptococos, *Staphylococcus* y *Campylobacter*

En las placas Petri se observó presencia de estreptococos por la coloración gris de las colonias, mientras que no hubo crecimiento de *Staphylococcus* que presenta colonias blancas, ni de *Campylobacter* que son colonias que crecen en forma de líneas en el agar Sangre. Una vez realizada la tinción como se observa en la Tabla 20 la estructura es en forma de cocos y la coloración varía entre un azul y violeta, siendo así bacterias Gram positivas. Con lo que se corrobora la presencia de estreptococos.


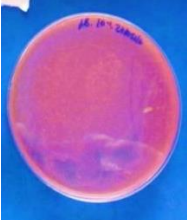
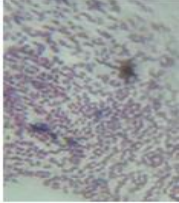
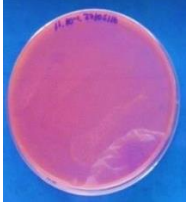
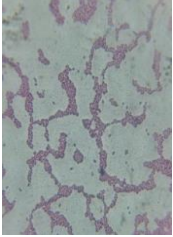
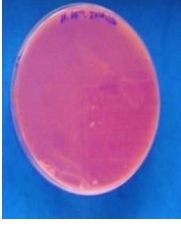
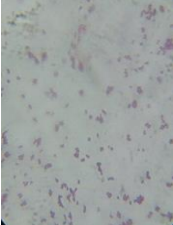
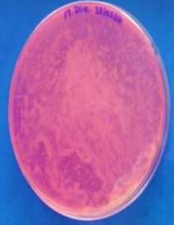
Tabla 20. Crecimiento de estreptococos, *Staphylococcus* y *Campylobacter* en placas Petri y resultados de la tinción Gram

Productor	Tinción	Placas Petri
LAA		
LAE		
LAC		
LAV		

4.2.3.6. *B. cereus*

En el medio MYP, crecen dos géneros *Bacillus subtilis* y *Bacillus cereus*, con coloración del medio amarilla y rosada respectivamente. Las placas presentaron coloración rosada y mediante la tinción se verificó que el crecimiento corresponde a *Bacillus cereus*, que se tiñó de color violeta, siendo Gram positivo y con la forma de un bacilo. Lo expresado anteriormente se muestra en la Tabla 21.

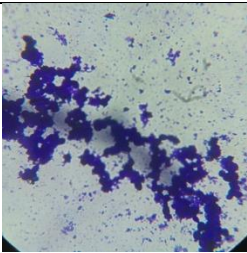
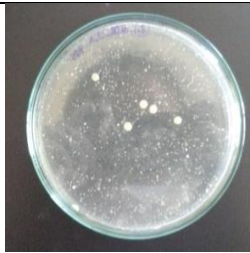
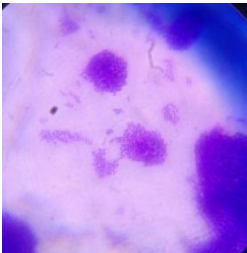
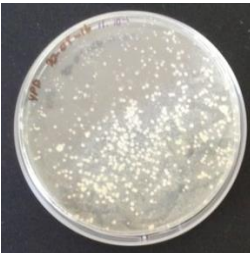
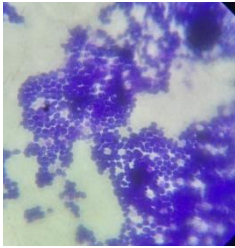
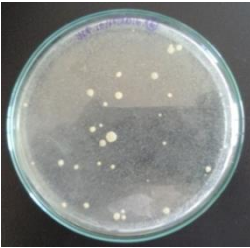
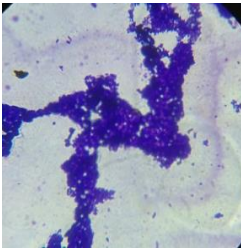
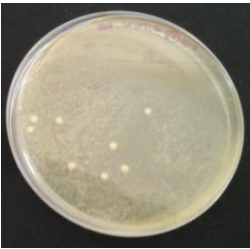
Tabla 21. Crecimiento de *B. cereus* en placas Petri y resultados de la tinción Gram

Productor	Tinción	Placa Petri
LAA		
LAE		
LAC		
LAV		

4.2.3.7. Levaduras

En la Tabla 22, se muestran las placas Petri con el medio de cultivo YDP, se observa crecimiento de colonias de color beige. Una vez realizada la tinción se observó la forma esférica característica de las levaduras y se clasificaron como Gram positivas por la coloración violeta y azul.

Tabla 22. Figuras de placas Petri incubadas y tinciones Gram, con sus respectivos productores.

Productor	Tinción	Placas Petri
LAA		
LAE		
LAC		
LAV		

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

En base a este estudio se conoce que los productores lácteos del cantón Mejía están conformados por 21 empresas de ellas, cuatro pertenecen a la parroquia Aloag. Las empresas con las que se trabajó son artesanales por lo tanto están en crecimiento y se benefician con estudios técnicos, que les permitirán implementar en sus procesos metodologías que aporten al desarrollo de su economía.

La mayor cantidad de lactosuero es desechado a las alcantarillas produciendo contaminación ambiental tanto en los ríos como en las acequias. Es usado para alimentación de animales en un 32% o venta el 18%, siendo datos bajos en comparación al desecho que es del 50%. Ningún productor realiza algún coproducto con el suero de leche.

El suero de queso fresco pasteurizado que se produce en la parroquia Aloag, tiene un perfil microbiológico altamente contaminado que podría deberse a la mala manipulación del alimento y falta de limpieza en los equipos y utensilios de elaboración.

En el lacto suero de todos los productores se observó presencia de Listeria y Salmonella, lo cual indica un gran problema sanitario y el riesgo de graves enfermedades transmitidas por alimentos en los consumidores. Sin embargo, el lacto suero es considerado un producto de desecho.

5.2. RECOMENDACIONES

Se recomienda hacer un estudio sobre el proceso de obtención de la materia prima, pues la carga microbiana puede proceder desde la extracción de la leche, en enfermedades de las ubres de la vaca o un inadecuado ordeño.

Capacitar a la los productores de la parroquia Aloag para que apliquen buenas prácticas de manufactura y se realicen los análisis microbiológicos en el producto, manipuladores y utensilios para garantizar la inocuidad de los productos.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Agudelo, D., & Bedoya, O. (2005). Composición nutricional de la leche de ganado vacuno . *Revista Lasallista de investigación*, 38-42.
- Alais, C. (2003). *Ciencia de la leche*. Francia: REVERTÉ.
- Álvarez , M. (2013). *Caracterización fisicoquímica de los diferentes tipos lactosueros producidos en la Cooperativa Colanta LTDA*. Recuperado el 11 de Julio de 2016, de http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1036/1/Caracterizacion_fisicoquimica_diferentes_tipos_lactosueros_producidos_Colanta.pdf
- Artica, L. (2014). *Métodos para el análisis fisicoquímico de la leche y derivados lácteos*. Perú: TEIA.
- Badui, S. (2006). *Química de los Alimentos*. México: Pearson Educación.
- Bohórquez, S. (Diciembre de 2012). *Universidad Central del Ecuador*. Recuperado el 13 de Julio de 2016, de Plan estratégico para la junta parroquial de Alóag cantón Mejía provincia de Pichincha : <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2013/1/T-UCE-0003-29.pdf>
- Camacho, A., Giles, M., Ortigón , A., Palao, M., Serrano, B., & Velázquez , O. (2009). *Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos* . México: UNAM .
- Carrillo, J. (2002). *Tratamiento y reutilización de suero de leche. Tratamiento de recuperación. Mundo lácteo y cárnico*. Recuperado el 14 de mayo de 2015, de http://www.lactodata.com/lactodata/docs/lib/jose_luis_carrillo_tratamiento_reutilización_2002.pdf

- Casado, P., & García, J. (2002). Mamitis y calidad de la leche. *Hojas Divulgadoras. Ministerio de Agricultura, pesca y alimentación*, 1-16.
- Celis, M., & Juárez, D. (2009). *Microbiología de la Leche*. Bahía Blanca: Edutecne.
- Chans, G. (2002). *Estafilococos*. Recuperado el 12 de Julio de 2016, de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%2017.pdf>
- Charley, H. (2001). *Tecnología de los alimentos*. México: LIMUSA S.A.
- CIMPA . (2013). *Certificación Kosher, ficha técnica de suero de leche* . Bogotá - Colombia: Insumos y tecnología para la industria alimentaria.
- Collins, C., & Lyne, P. (1989). *Métodos Microbiológicos*. Zaragoza: ACRIBIA, S.A. .
- COVENIN 3821. (2003). *Queso Blanco*. Venezuela: Norma Venezolana.
- Doyle, M., Beuchat, L., & Montville, T. (2001). *Microbiología de los Alimentos*. Zaragoza: ACRIBIA, S.A. .
- Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería. (2010). *Definición, composición, estructura y propiedades de la leche*. Recuperado el 05 de Julio de 2016, de http://datateca.unad.edu.co/contenidos/301105/Archivos-2013-2/Reconocimiento/301105_LECTURA_Revision_de_Presaberes.pdf
- Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria. (2013). *Campylobacter* . *Elika*, 1-5.
- Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria. (2013). *Shigella*. *Elika*, 1-3.
- Gobierno de la provincia de Pichincha. (2012). Cantón Mejía. *Distrito Metropolitano de Quito. Caracterización cantonal y parroquial* , 105-127.

- Gomez , M. (mayo de 2013). *Programa de tecnología de alimentos* . Recuperado el 06 de Julio de 2016, de http://datateca.unad.edu.co/contenidos/301105/301105_Archivos_2014_1/Contenidos/301105_Modulo_Act_Mayo_20_2013.pdf
- Heer, G. (2007). *Cátedra de tecnología de la leche*. Recuperado el 06 de Julio de 2016, de Microbiología de la leche: <http://www.fcv.unl.edu.ar/archivos/grado/catedras/tecnologialeche/informacion/microbiologia.pdf>
- Hernández, M., & Vélez, J. (2014). Suero de leche y su aplicación en la elaboración de alimentos funcionales. *Temas selectos de ingeniería de alimentos* , 13-22.
- Instituto Nacional de Salud . (28 de julio de 2011). *Evaluación de riesgos de Listeria monocytogenes en queso fresco en Colombia*. Obtenido de <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/investigacion/ueria/Publicaciones/ER%20LISTERIA%20EN%20LPC.pdf>
- IRAM 14005. (1976). *Leche y productos lácteos. Requisitos* . Buenos Aires - Argentina: Instituto Argentino de Normalización y Certificación .
- Lezama, D. (2010). *Comportamiento y evaluación de las proteínas de la leche (caseína y del lactosuero) frente al tratamiento térmico y pH*. Recuperado el 11 de Julio de 2016, de <http://www.uap.edu.pe/intranet/fac/material/04/20102BT040104235040104011/20102BT04010423504010401118707.pdf>
- Lucas, V., & Lucas , M. (2014). *Calidad de la leche y mastitis*. Buenos Aires : Universidad del Salvador.
- Madrid, A. (1999). *Tecnología quesera*. Madrid: Mundi.Prensa.

- MAGAP. (2006). *Sistema de información nacional de agricultura, ganadería, acuicultura y pesca*. Recuperado el 14 de mayo de 2015, de <http://sinagap.agricultura.gob.ec/leche-ce>
- Mahaut, M., Jeantet, R., Schuck, P., & Brulé, G. (2004). *Productos Lácteos Industriales*. Zaragoza: ACRIBIA, S.A.
- Mejía, M. d. (2003). *Plan de desarrollo estratégico del cantón Mejía. Convenio de cooperación técnica. Resumen ejecutivo*. Recuperado el 14 de mayo de 2015, de http://www.municipiodemejia.gob.ec/downloads/lotaip2014/S/PLAN_DE_DESARROLLO_CANTON_MEJIA.pdf
- Moreno, B., Diez, V., García, L., Menes, I., Gutiérrez, L., & Polledo, F. (2007). *Microorganismos de los alimentos*. España: Acribia S.A.
- Municipalidad de Mejía . (2015). *Plan de desarrollo estratégico del Cantón Mejía* . Machachi: AME.
- Municipalidad del cantón Mejía. (2011). *Caracterización de la parroquia Alóag*. Recuperado el 13 de Julio de 2016, de http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PORTAL_SNI/data_sigad_plus/sigadplusdocumentofinal/1768098680001_PDOT%20FINAL%20ALOAG_30-10-2015_12-08-25.pdf
- NMX-F-721-COFOCALEC. (2012). *Sistema producto leche-Alimentos-Lácteos-Suero de Leche (líquido o en polvo). Especificaciones y métodos de prueba*. México: Organismo Nacional de Normalización del COFOCALEC.
- NOM-243-SSA1. (2010). *Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba* . México : Norma Oficial Mexicana.
- NTE INEN 0009. (2008). *Leche cruda. Requisitos*. Quito - Ecuador: Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria.

- NTE INEN 2594. (2011). *Suero de leche líquido. Requisitos*. Quito - Ecuador: Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria.
- Parra, R. (2009). *LACTOSUERO: IMPORTANCIA EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS*. Medellín.
- Pascual , M., & Calderón , V. (1999). *Microbiología Alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas*. . Madrid : Díaz de Santos, S.A. .
- (2010). El suero de queso en la alimentación de los cerdos. En G. Pechin , & H. Álvarez .
- Pérez, I. (2012). Bacillus cereus y su papel en las intoxicaciones alimentarias. *Revista Cubana de Salud Pública*, 98-108.
- Revilla, A. (1969). *Tecnología de la leche*. México: IICA: Serie de libros y materiales educativos .
- Robalino , H. (2011). "*Evaluación de la Actividad Biológica y Nutricional del Biol en diferentes formulaciones y la respuesta a su aplicación en cultivos de arroz y maíz, en Guayas*". (Tesis de maestría). Guayaquil: Escuela Superior Politécnica del Litoral .
- Rodríguez, G. (2000). *Temas de bacteriología y virología médica*. Recuperado el 13 de Julio de 2016, de Géneros Streptococcus y Enterococcus:
<http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/StreptococcusyEnterococcus.pdf>
- Rojas , A. (2011). *Conceptos y práctica de microbiología general* . Recuperado el 12 de agosto de 2016, de <http://www.bdigital.unal.edu.co/4999/1/albertorojastrivino.2011.pdf>
- Santos , A. (1991). *Leche y sus derivados*. México: Trillas.
- SENPLADES. (2014). *Cantón Mejía*. Quito: Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo .

- Siciliano, M. (2010). *"Estudio de la vida útil de queso crema utilizando microbiología predictiva"*. (Tesis inédita de postgrado). Buenos Aires, Argentina : Universidad Tecnológica Nacional de Buenos Aires .
- Velázquez , M. E. (2005). Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* meticilinorresistente. *Biología experimental. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa*, 381-387.
- Vicent, C., Álvarez, S., & Zaragoza, J. (2006). *Química industrial Orgánica, Ingeniería Química y Nuclear*. Valencia: Universidad politécnica de Valencia.
- World Organisation for Animal Health. (2008). *Campylobacter jejuni y Campylobacter coli. Manual de la OIE sobre animales terrestres* , 1-8.

ANEXOS

ANEXO I

ENCUESTA PROCESADORES LÁCTEOS

DATOS GENERALES	
NOMBRE DE LA EMPRESA:	
NOMBRE Y APELLIDOS DEL RESPONSABLE:	
CARGO QUE DESEMPEÑA:	
UBICACIÓN DE LA EMPRESA	
PROVINCIA:	
CANTÓN:	
PARROQUIA:	
DIRECCIÓN:	
TELÉFONO:	CELULAR:
CORREO ELECTRÓNICO:	
CATEGORIZACIÓN MIPRO:	
ARTESANAL <input type="checkbox"/>	PEQUEÑA EMPRESA <input type="checkbox"/>
MICROEMPRESA <input type="checkbox"/>	MEDIANA EMPRESA <input type="checkbox"/>
OTRO <input type="checkbox"/>	GRAN EMPRESA <input type="checkbox"/>
NÚMERO DE EMPLEADOS:	
VENTAS ANUALES (USD):	

1. ¿Cuántos litros de leche procesa diariamente?

0 – 500 500 – 1000 1000 – 5000 5000 – 10000 mayor a
10000

2. ¿Cuántos proveedores de leche tiene?

Menor a 10 11-20 21-30 31-50 mayor a 50 # _____

3. ¿Qué parámetros utiliza para la selección de sus proveedores?

Precio cantidad calidad disponibilidad otro

4. ¿Dispone de un laboratorio de recepción de leche?

Si no

5. ¿Qué pruebas realiza para la recepción de la leche?

Alcohol Acidez Densidad pH Reductasa Ebullición

Otro

6. ¿Qué tipo de productos elabora, en qué cantidad y con qué frecuencia?

Producto	SI/NO	Cantidad	Frecuencia
Leche pasteurizada			
Queso fresco			
Yogur			
Manjar			
Mantequilla			
Quesos maduros			
Otros			

7. Si elabora queso fresco. Describa el proceso que utiliza.

- a. _____
- b. _____
- c. _____
- d. _____
- e. _____
- f. _____
- g. _____
- h. _____

8. ¿Qué cantidad de suero de quesería obtiene y con qué frecuencia?

0 – 500 500 – 1000 1000 – 5000 5000 – 10000 mayor a 10000

Diario Semanal Mensual

9. ¿Qué hace con el suero de quesería?

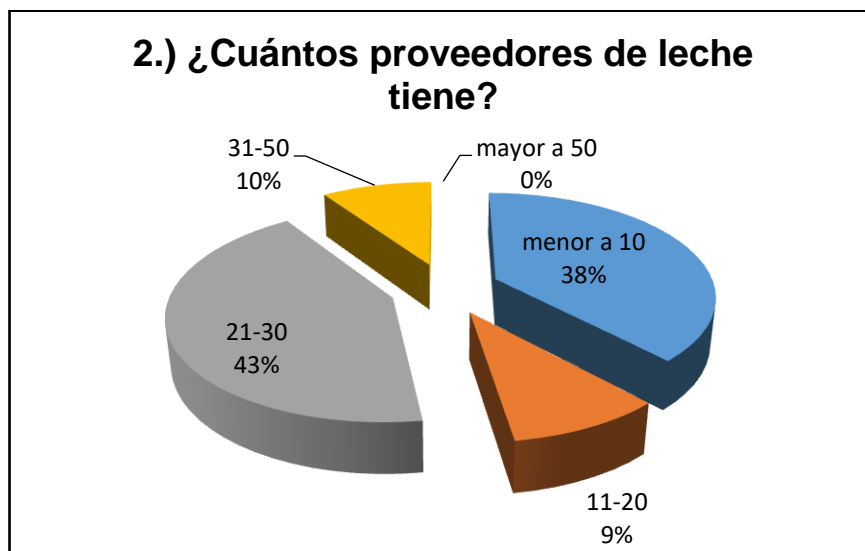
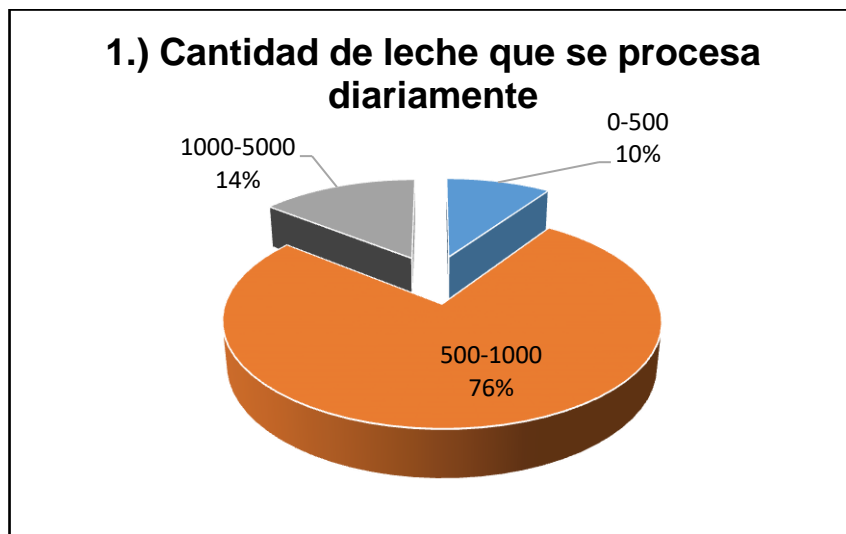
Vende desecha alimentación animal otro

10. Si desecha el suero. ¿Dónde lo desecha?

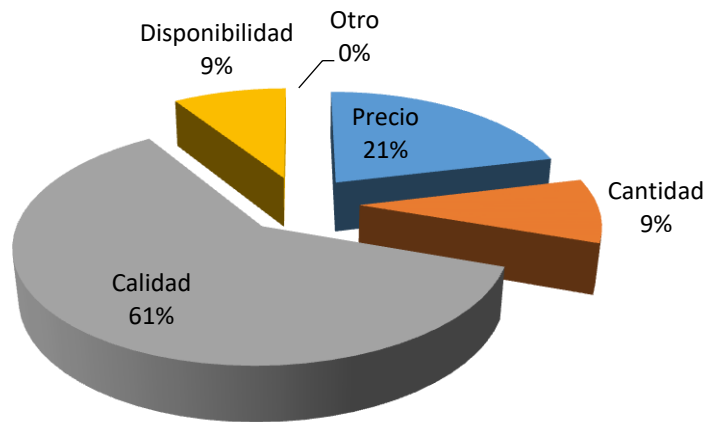
Alcantarillado acequia otro

ANEXO II

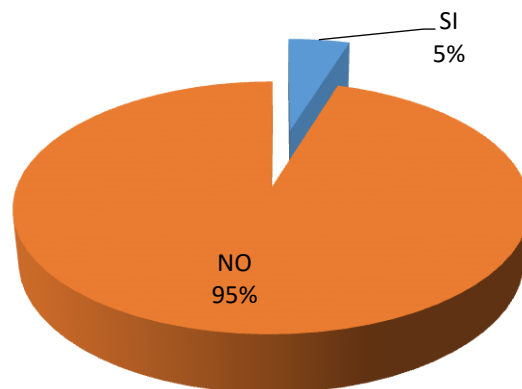
TABULACIÓN DE LOS RESULTADOS QUE SE OBTUVO DE LA ENCUESTA



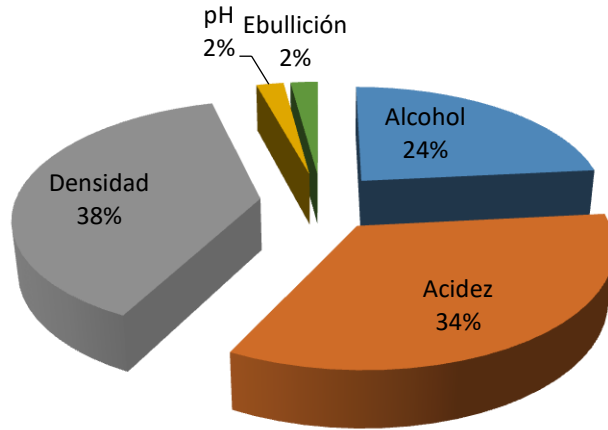
3.) ¿Qué parámetros utiliza para la selección de sus proveedores?



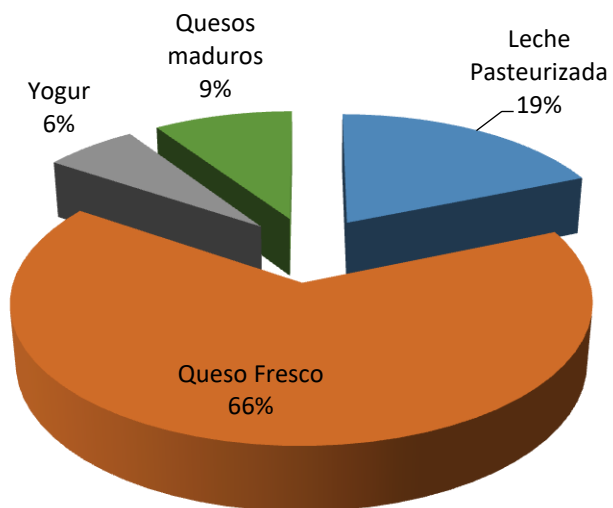
4.) ¿Dispone de un laboratorio de recepción de leche?



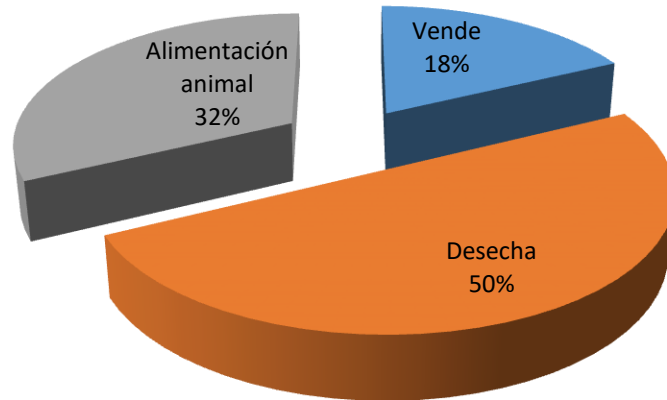
5.) ¿Qué pruebas realiza para la recepción de la leche?



6.) ¿Qué tipo de productos elabora, en qué cantidad y con qué frecuencia?



7.) ¿Qué hace con el suero de quesería?



8.) Si desecha el suero. ¿Dónde lo desecha?

