UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN AGROINDUSTRIA MENCIÓN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

MODALIDAD: INFORME DE INVESTIGACIÓN

Titulo:

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA EN QUESOS FRESCOS DE PRODUCCIÓN ARTESANAL EXPENDIDOS EN EL MERCADO CERRADO LATACUNGA.

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de magister en Agroindustria mención Tecnología de Alimentos

Autor
Moreano Terán Nancy Fabiola. Ing.

Tutor
Rojas Molina Jaime Orlando. Quím.

LATACUNGA –ECUADOR
2021

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de Titulación ¨Evaluación de la calidad microbiológica en quesos frescos de producción artesanal expendidos en el mercado cerrado Latacunga" presentado por Moreano Terán Nancy Fabiola, para optar por el título magíster en Agroindustria mención Tecnología de Alimentos.

CERTIFICO

Que dicho trabajo de investigación ha sido revisado en todas sus partes y se considera que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación para la valoración por parte del Tribunal de Lectores que se designe y su exposición y defensa pública.

Latacunga, noviembre,2021

Mg. Jaime Orlando Rojas Molina. Quím.

C.C: 0502645435

APROBACIÓN TRIBUNAL

El trabajo de Titulación ¨Evaluación de la calidad microbiológica en quesos frescos de producción artesanal expendidos en el mercado cerrado Latacunga", ha sido revisado, aprobado y autorizado su impresión y empastado, previo a la obtención del título de Magíster en Agroindustria mención Tecnología de Alimentos; el presente trabajo reúne los requisitos de fondo y forma para que el estudiante pueda presentarse a la exposición y defensa.

Latacunga, noviembre 2021

Ing. Maricela Trávez Mg.
C.C..050.227093.7..
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Pablo Herrera Mg
C.C..050.1690259...
MIEMBRO 2

Ing. Franklin Molina Mg.
C.C..0501821433.....
MIEMBRO 3

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación es muestra de superación, perseverancia y anhelos planteados en mi vida; para cada día aportar con alternativas innovadoras para la trasformación de una sociedad más justa y equitativa.

Dedicado a mi esposo Luis Fredy por ser parte importante de este logro, por brindarme el apoyo incondicional para alcanzar mis objetivos.

A mi hijo Alejandro Josué que es la mitad de mi vida, que con sus besos y abrazos me motivo a seguir siempre adelante, en honor a esas largas noches que pasaba esperándome.

A toda mi familia por sus palabras de aliento y fortaleza en momentos difíciles, más aún que justo en este proceso perdimos a un ser tan querido que nos hará falta toda la vida, pero que ahora es nuestro ángel desde el cielo.

Nancy Fabiola

AGRADECIMIENTO

Expresar mi sincero agradecimiento a mi querida Universidad Técnica de Cotopaxi, noble institución que abrió sus puertas brindando las oportunidades y espacios necesarios para especializarme como profesional.

Por su lucha constante de alcanzar los mejores parámetros de calidad, y convertirse en una institución líder en el desarrollo de la provincia y del país.

Mi gratitud a los docentes que impartieron sus conocimientos y experiencias si recelo ni egoísmo, sino al contrario dieron todo de si para conocer y descubrir nuevos retos que nos enseñan a ser mejores profesionales y personas en el mundo laboral.

Finalmente, a mis compañeros con quienes compartimos momentos muy agradables.

Nancy Fabiola

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Quien suscribe, declara que asume la autoría de los contenidos y los resultados obtenidos en el presente trabajo de titulación.

Latacunga, noviembre 2021

.....

Nancy Fabiola Morcano Terán Ing.

C.C:050335212-2

RENUNCIA DE DERECHOS

Quien suscribe, cede los derechos de autoría intelectual total y/o parcial del presente trabajo de titulación a la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Latacunga, noviembre 2021

.....

Nancy Fabiola Moreano Terán Ing.

C.C:050335212-2

AVAL DE VEEDOR

Quien suscribe, declara que el presente Trabajo de Titulación ¨Evaluación de la calidad microbiológica en quesos frescos de producción artesanal expendidos en el mercado cerrado Latacunga", contiene las correcciones a las observaciones realizadas por los lectores en sesión científica del tribunal.

Latacunga,noviembre2021

Ing. Maricela Trávez Mg.
C.C. 050.227093 7
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN AGROINDUSTRIA MENCION TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

TÍTULO: Evaluación de la calidad microbiológica en quesos frescos de producción artesanal expendidos en el mercado cerrado Latacunga.

Autora:
Moreano Terán Nancy Fabiola Ing.
Tutor:
Rojas Molina Jaime Orlando Quím.

RESUMEN

El queso fresco es un alimento ampliamente consumido por la población ecuatoriana; sin embargo, el consumidor desconoce sobre la calidad microbiológica del producto representando un riesgo para la salud.

El objetivo general del trabajo de investigación es la evaluación microbiológica de los quesos frescos expendidos en el mercado cerrado Latacunga el cual se realizó mediante técnicas microbiológicas y bajo las especificaciones de la Norma Técnica INEN 1528:2012 la misma que determina la calidad microbiológica del producto a través de parámetros permisibles de niveles de buenas calidad y niveles de calidad aceptable.

Los resultados obtenidos reportan que el 75 % de las muestras analizadas superan la carga microbiológica en *E. Coli,* en los análisis *de Enterobacterias* el recuento supera los parámetros permisibles obteniendo valores entre 10^4 a 10^5 ufc/g, el 50 % de las muestras reportan presencia de *Listeria Monocitogenes,* por la exposición del producto en las actividades comerciales existen condiciones para el desarrollo de *Salmonella* y *Staphylococcus aureus.*

Por lo tanto, se determina que los quesos frescos expendidos en el mercado cerrado Latacunga presenta condiciones higiénicas deficientes afectando a la calidad del producto.

Palabras Claves: Queso, Calidad, Inocuidad, Microorganismos, Salud.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
DIRECCIÓN DE POSGRADO
MAESTRÍA EN AGROINDUSTRIA MENCIÓN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

THEME: Microbiological quality Evaluation in fresh cheeses of artisan production sold at closed market from Latacunga.

Autora:
Moreano Terán Nancy Fabiola Ing.
Tutor:
Rojas Molina Jaime Orlando Quim.

ABSTRACT

The fresh cheese is a widely food consumed by the Ecuadorian population; however, the consumer not to know about the microbiological quality of that product representing a risk to health. The microbiological evaluation of the fresh cheese was the main purpose of this research, which was carried out using microbiological technique and under the specifications of the INEN 1528:2012 Technical Standard, which regulates it, through permissible parameters of good quality and acceptable quality levels. The obtained results show 75% from analyzed samples exceed the permissible parameters, obtaining values between 10 ^{2} and 10 ^{6} cfu/g, 50% samples report *Listeria Monocytogenes*, due to the exposure of that product in commercial activities, there are conditions for Salmonella and Staphylococcus aureus development. Therefore, it is determined that the fresh cheeses sold at Latacunga closed marked show poor hygienic conditions affecting the product quality.

Key words: Cheese, quality, safety, microorganisms, health.

CERTIFICACIÓN

Lidia Rebeca Yugla Lema con cédula de identidad número: 050265234-0 Licenciado/a en: Licenciada En Ciencias De La Educación Especialización Inglés con número de registro de la SENESCYT: 1020-07-747861; CERTIFICO haber revisado y aprobado la traducción al idioma inglés del resumen del trabajo de investigación con el titulo: "**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA EN QUESOS FRESCOS DE PRODUCCIÓN ARTESANAL EXPENDIDOS EN EL MERCADO CERRADO LATACUNGA**" de: Nancy Fabiola Moreano Terán aspirante a magister en Agroindustria mención Tecnología de Alimentos.

Latacunga, noviembre 2021

Lidia Rebeca Yugla Lema
050265234-0

CENTRO DE IDIOMAS

INDICE DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN……. 1
Antecedentes 1
Justificación.- 4
Planteamiento del problema .-..... 6
Problema de investigación 8
Hipótesis..... 8
Objetivos de la Investigación 9
Objetivo General. 9
Objetivos Específicos..... 9
CAPÍTULO I..... 11
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA..... 11
1.1. Fundamentación del Estado del Arte..... 11
1.2. Fundamentación Epistemológica. 13
1.3. Fundamentación teórica 14
1.3.1. El Queso..... 14
1.3.2. Características del queso fresco. 18
1.3.3. Procesos químicos en la producción de queso 19
1.3.4. Alteraciones fisicoquímicas del queso. 20
1.3.5. Alteraciones y defectos en el producto final 20
1.3.6. Alteraciones microbiológicas del queso fresco y enfermedades de trasmisión alimentaria..... 22
1.3.7. Influencia de la cadena de frío en el transporte, almacenamiento del queso y el crecimiento microbiano. 28
1.4. Seguridad microbiológica de los alimentos. 31
1.5. Seguridad alimentaria e inocuidad de los alimentos. 32
1.6. Responsabilidad compartida de la inocuidad de los alimentos 33
1.7. Mercados saludables en el Ecuador..... 33
1.8. Métodos rápidos para el recuento de microorganismos indicadores 35
1.9. Conclusiones Capítulo I..... 36
CAPITULO II 37
MATERIALES Y MÉTODOS 37
2.1. Metodología de la investigación 37
2.2. Diseño de la investigación. 38
2.2.1. Definición la población..... 38

2.2.2. Cálculo de la muestra, procedimiento y codificación..... 39
2.2.3. Materiales, equipos y reactivos..... 41
2.3. Determinación los microorganismos indicadores de la calidad microbiológica. 42
2.4. Determinación de bacterias *Enterobacterias, E. coli/coliformes, Staphylococcus aureus,* por la técnica de Placas Petrifilm 3M. 44
2.5. Determinación de *Salmonella* por la técnica de Placas Petrifilm 3M. 45
2.6. Determinación de *Listeria monocitogenes* por la técnica de Placas Petrifilm 3M método cualitativo. 47
2.7. Evaluación la calidad microbiológica de las muestras analizadas. 48
2.8. Resultado viable de enterobacterias en placas Petrifilm..... 49
2.9. Resultado viable de Escherichia coli y coliformes totales en placas Petrifilm
2.10. Resultado viable de Staphylococcus aureus en placas Petrifilm 50
2.11. Resultado viable de Salmonella en placas Petrifilm método cualitativo.. 51
2.12. Resultado viable de Listeria monocitogenes en placas Petrifilm método cualitativo. 51
2.13. Comparación de resultados obtenidos con los parámetros permisible indicadores de la calidad microbiológica del producto. 52
CAPÍTULO III 54
3.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN..... 54
3.2. Resultado y discusión del análisis microbiológico de *Enterobacterias.*..... 56
3.3. Resultado y discusión del análisis microbiológico de Coliformes Totales.... 58
3.4. Resultado y discusión del análisis microbiológico de *Escherichia coli*. 60
3.5. Resultado y discusión del análisis microbiológico de *Staphylococcus aureus.* 63
3.6. Resultado y discusión del análisis microbiológico cualitativo de *Listeria monocitogenes.* 65
3.7. Resultado y discusión del análisis microbiológico cualitativo de *Salmonella.* 68
3.8. Evaluación de expertos 70
3.10. Evaluación de usuarios..... 70
CONCLUSIONES 72
RECOMENDACIONES 74
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 75

INDICE DE TABLAS.

Tabla 1. *Sistema de tareas en relación con los objetivos específicos.* 10
Tabla 2. Etapas del problema de investigación. 10
Tabla 3. Propiedades nutricionales del queso. 16
Tabla 4. Innovación de tipos de queso para importación proyección 2024. 18
Tabla 5 Requisitos de quesos frescos no madurados 19
Tabla 6 . Requisitos microbiológicos en queso fresco. 23
Tabla 7. Codificación de muestras de queso fresco. 40
Tabla 8. Diluciones por microorganismo. 44
Tabla 9. Tiempo y Temperatura de Incubación por microorganismo 48
Tabla 10. Parámetros microbiológicos quesos frescos Norma Técnica NTE INEN 1528:2012 53
Tabla 11. Promedio de ufc/g de Enterobacterias. 56
Tabla 12. Promedio de ufc/g de Coliformes totales. 59
Tabla 13. Promedio de ufc/g de Escherichia coli. 60
Tabla 14. Promedio de ufc/g de Staphylococcus aureus. 63
Tabla 15. Resultado cualitativo del análisis microbiológico de Listeria monocitogenes 66
Tabla 16. Resultado cualitativo del análisis microbiológico de Salmonella 68

INDICE DE GRÁFICOS.

Gráfico 1. Desglose del consumo lechero mundial..... 17
Gráfico 2. Función de los equipos de frio instalados en el transporte 30
Gráfico 3. Distribución de áreas de comercialización segundo piso del mercado cerrado Latacunga. 39
Gráfico 4. Recuento de *Enterobacterias*..... 49
Gráfico 5. Recuento de *E. Coli*, *Coliformes totales* y tipos de burbujas asociadas a colonias 50
Gráfico 6. Recuento *Staphylococcus aureus*..... 50
Gráfico 7. Colonias presuntivas positivas en placa..... 51
Gráfico 8. Identificación cualitativa de Listeria monocitogenes en placa 52
Gráfico 9. Promedio de ufc/g de *Enterobacterias*. 57
Gráfico 10. Porcentaje de muestras que cumplen los límites permisibles según NTE INEN 1528:2012 *Enterobacterias*..... 57
Gráfico 11. Promedio de ufc/g de *Coliformes Totales*..... 60
Gráfico 12. Promedio de ufc/g de *Escherichia coli*. 61
Gráfico 13. Porcentaje de muestras que cumplen los límites permisibles según NTE INEN 1528:2012 *Escherichia coli* 62
Gráfico 14. Promedio de ufc/g de *Staphylococcus aureus*. 64
Gráfico 15. Porcentaje de muestras que cumplen los límites permisibles según NTE INEN 1528:2012 *Staphylococcus aureus*..... 64
Gráfico 16. Porcentaje de muestras que cumplen los límites permisibles según NTE INEN 1528:2012 *Listeria monocitogenes*..... 67
Gráfico 17. Porcentaje de muestras que cumplen los límites permisibles según NTE INEN 1528:2012 *Salmonella*. 69

INTRODUCCIÓN

Antecedentes .-Las enfermedades por transmisión alimentaria en los últimos años han ocasionado problemas de salud sumamente graves en los seres humanos, especialmente en niños menores de 5 años de edad; cada año aproximadamente mueren 2,2 millones de personas en el mundo (Ferrer,2018).

La contaminación alimentaria se produce por distintos factores como la manipulación inadecuada de los productos, utensilios, superficies contaminadas, mal manejo de temperaturas o ruptura de la cadena de frio, especialmente en productos sensibles o perecederos como el queso fresco, genera condiciones favorables para la proliferación de microrganismos, por ello es importante estar vigilantes de la inocuidad alimentaria como requisito para el bienestar social de las poblaciones en todos los países del mundo.(González&Carroza,2019),los productos contaminados generan intoxicaciones alimentarias que se derivan de la ingesta de alimentos con sustancias tóxicas o toxiinfecciones provocadas por microorganismos patógenos, que llegan de forma accidental durante la etapa de producción, transporte, almacenamiento, comercialización sirviendo el alimento como fuente de reproducción o multiplicación de microorganismos como *Salmonella, Shigella, E. coli, Listeria monocytogenes* entre otras. Los alimentos insalubres son causantes de 200 enfermedades que van desde malestares estomacales hasta algunos tipos de cáncer; en menores de edad se reportan 125.000 muertes/año y solo el 43 % soportan enfermedades de transmisión alimentaria, cada año se reporta 550 millones de personas enfermas provocando 230.000 muertes en el mundo, la bacteria más identificada es *Salmonella*, *E. coli* causando enfermedades invasivas que complican rápidamente la salud de las personas. (González & Carroza, 2019).

Según el Centro Nacional de Epidemiología del Instituto de Salud Carlos III, registra que los factores que se presentan en la contaminación cruzada, el 26,5% es el manejo de temperaturas inadecuadas el 20,8% reacción microbiológica del alimento, el 18,7% por las condiciones mismas del alimento como actividad del agua. En el año 2018 en los países de la Unión Europea se reportaron productos transmisores contaminados el 24%, productos cárnicos el 8% mariscos, el 7,4% pescados y sus derivados. (Instituto de salud Carlos III, España, 2018)

Estados Unidos reporta de 300 a 350 veces más frecuentes casos de enfermedades por transmisión alimentaria registrando 3.900 muertes al año, a estas dificultades se suma la inversión en el sector de salud, cerca de treinta mil millones de dólares anuales; existen investigaciones que en productos lácteos, ensaladas de repollo, quesos no pasteurizados, leche se ha encontrado patógenos como *Listeria* y *Salmonella* ampliamente distribuida en el medio natural siendo las causantes de cuadros de enteritis, septicemia, aborto en animales, gastroenteritis, fiebre tifoidea.(Domínguez & Carmona, 2010)

Según la FAO indica que en América Latina 187 millones de personas sufren de inseguridad alimentaria y cada año esta variable se modifica del 2016 al 2018 la variable de moderada a grave aumento del 26,2% al 31,1%, la variable grave creció del 7,3% al 8,9%, muchas de esta consecuencia responden a las crisis o recesión, desigualdad social que pone en riesgo el acceso de alimentos de calidad y seguros. El problema de ETAS se deriva del desarrollo socioeconómico de cada país o región esto influye en las tasas de morbilidad y mortalidad de las personas, se estima que en las regiones de América Latina 77 millones de personas son afectadas, 9.000 millones mueren, de ellos 31millones son niños menores de 5 años, también se reporta que en África y Asia Sudoriental el problema es más complejo. (FAO,2019).

Según el boletín epidemiológico de Colombia Medellín reporta que en el año 2018 se registraron 13.769 reportes de enfermedades por contaminación alimentaria de esto el 9,37% dieron positivas a infección por microorganismos el 15,7% negativo y el 74,4% no detectados por lo que cada día los organismos competentes realizan controles en establecimientos abiertos al público, recolectando muestras de alimentos, control de higiene de superficies y de contacto con los alimentos, determinación de puntos críticos de control en las áreas que afectan a la inocuidad de los alimentos (MSP, 2018).

En Ecuador en el año 2018 se reportaron 24.000 casos por enfermedades de trasmisión alimentaria, distribuidos de la siguiente manera intoxicaciones alimentarias bacterianas 15.439 casos, Hepatitis A 4.126 casos, infecciones por *Salmonella* 2.680 casos, fiebre tifoidea y paratifoidea 1.476 casos, Shigelosis 386 casos y 1 caso de Cólera; los síntomas visibles del cuadro clínico fueron náuseas,

vómito, diarrea, dolor estomacal, calambres abdominales, todo indica que los alimentos ingeridos tuvieron una mala manipulación, preparación o conservación que provocó el malestar en el organismo de las personas diagnosticadas (MSP, 2019).

La provincia que más reportes de casos de intoxicación alimentaria es Pichincha con 1.767 casos abarcando el 30.15% reportado a nivel nacional, afectado a personas que oscilan entre los 21 a los 49 años mayoritariamente de sexo femenino, seguido de Guayas con 904 casos que corresponde al 15.42%, en Cotopaxi se reportó 168 casos con el 2.86 % y la provincia que menos casos reportados tiene es Santo Domingo de los Tsáchilas, en el reporte se muestra infecciones por salmonelosis que afecta mayoritariamente a niños pequeños, ancianos provocando deshidratación; la provincia que mayor caso se ha reportado es Guayas con 270 casos acumulando el 36.73 % en la nación, seguido de Morona Santiago con 99 casos reportados que corresponde al 13.46 % en Cotopaxi se registró 22 casos que corresponde al 2.9 % a nivel nacional entre las provincias que menos reportan estos casos son Bolívar, Cañar, Orellana y Pastaza reportando 1 caso anual (MSP, 2019).

Es importante que el consumidor esté informado adecuadamente del producto que adquiere para evitar fraude y adulteración que provoquen daño a la salud humana, restricciones de comercialización para compradores y competidores sin embargo se ha detectado que el consumidor es la parte más vulnerable de la cadena, por un lado, es aquel que elige el producto ejerciendo una acción activa, por otro lado, se convierte en un agente pasivo sin participación en el proceso (Pulido, 2010).

La evaluación de la calidad de los alimentos en especial de los quesos frescos, elaborados de manera artesanal expendidos en el mercado cerrado de Latacunga expondrá resultados para que las autoridades competentes tomen medidas de mejora continua y contribuya al mejoramiento de la salud de la población consumidora, la prevención de las enfermedades de trasmisión alimentaria depende del manejo, manipulación de los productos, la supervisión, control y monitoreo que se realice estas medidas sanitarias representa un ahorro importante de costos sociales en salud (Bayona, 2019).

Por lo tanto, el trabajo de estudio se enfoca al desarrollo de la línea de investigación de: Procesos industriales con la sub-linea: Análisis cualitativo, cuantitativo y sensorial de alimentos y no alimentos de productos agroindustriales como son (Métodos, Normas, BPM, inocuidad de alimentos, seguridad alimentaria)

Justificación.- La alimentación es un derecho humano y social en el que cada una de las personas deben tener acceso inocuo, nutritivo, adecuada en cantidad y calidad para desarrollar una vida plena y digna; cada nación es responsable de emitir políticas y normativas para el aseguramiento de la misma; pero la situación económica de los países, inflación, recesión económica hace que los niveles de pobreza, marginalización en el área rural sea cada día creciente e imposible el acceso a los alimentos; creando problemas sociales como el hambre, desnutrición. La seguridad alimentaria es una responsabilidad del estado, pero poco a poco ha ido perdiendo autoridad para regular políticas como el comercio, política agraria, biodiversidad, estas se reducen cada día más frente a la aplicación de normas internacionales que determinan la producción nacional. (Sandoval, 2019)

El mundo ha evolucionado progresivamente, esto hace que a través de la tecnología, las redes de comunicación puedan acceder a cualquier tipo de información y se pueda generar una amplia relación mundial más aún, en la globalización alimentaria que ha impulsado el abaratamiento de la materia prima que ha hecho que exista una diversidad de productos e influya a un cambio de patrón alimentario favoreciendo al desarrollo de enfermedades como la obesidad o normalmente a infecciones producidas por los microorganismos contenidos en alimentos, por lo que nos hace sensibles a la inseguridad alimentaria y a elevar el riesgo de vulnerabilidad. La eliminación de los aranceles de fronteras favorece a la liberación de mercados ha reducido la posibilidad de restringir la entrada de alimentos generando una competencia desleal con los pequeños productores y comerciantes del país (Rivera & Ferre, 2011).

La inocuidad de los alimentos es un conjunto de medidas y acciones durante el proceso, almacenamiento, distribución de los alimentos, tiene la finalidad de asegurar que una vez ingeridos por el consumidor no cause efectos negativos y peor aún presente riesgo al bienestar, para ello se debe garantizar calidad del producto,

el alimento debe estar libre de agentes químicos, biológicos cumplir con los parámetros permisibles según la naturaleza de los productos. La inocuidad de los alimentos es la responsabilidad de un conjunto de personas que va desde el productor, hasta el consumidor final, se trata de una cadena alimentaria ordenada, regular y adecuada para garantizar la calidad de los productos, es fundamental cumplir con la normativa vigente en cada país como signo de responsabilidad y seguridad alimentaria. (MSP, 2013)

Los productos lácteos son alimentos que contiene propiedades nutricionales que aportan significativamente al desarrollo y salud de los seres humanos en especial el queso; que es uno de los alimentos de consumo habitual, en la dieta de las familias ecuatorianas, se elabora de manera artesanal e industrial, se presentan empacados al vacío o en fundas de polietileno, por lo tanto es importante mantener la cadena de frio para mantener controlada la temperatura desde la producción, transporte, almacenamiento, comercialización, hasta que llegue de forma segura al consumidor final.(Zafra Aparici et al., 2016). El queso fresco después del envasado debe ser conservado o refrigerado a temperaturas de 2°C a 4° C bajo estas condiciones la vida útil se prolonga has los 30 días, la cámara de almacenamiento debe mantenerse limpia seca y única para el producto (Baque, 2019).

En la mayoría de los centros de bastos o zonas de mercados populares se encuentran instalados frigoríficos polivalentes que están destinados a conservar toda clase de productos con un amplio intervalo de temperaturas; el modelo, diseño y construcción no son adecuadas para la comercialización. (Toro, 2000). En estos espacios se evidencia condiciones higiénicas deficientes, ausencia de instalaciones de agua potable, deficientes conexiones eléctricas, paredes y pisos sin recubrimientos técnicos, humedad, poca ventilación, concentración de hedor en el ambiente por alimentos en descomposición o residuos que quedan atrapados en el canal de desagüe; mal manejo de desechos; todos estos factores generan el ambiente propicio para la contaminación de productos sensibles o de consumo directo.

La cadena de frio es fundamental para mantener la inocuidad de los productos lácteos y no causar daños en el consumidor, la deficiencia de esta, puede desatar enfermedades trasmitidas por alimentos, provocadas por la proliferación de

microrganismos, esta se ve seriamente afectada cuando desconectan las neveras o frigoríficos en la noche hasta el día siguiente, exponiendo al producto a cambios de temperatura y alterando la vida útil, también se relaciona directamente con la conservación de las características organolépticas y la calidad del producto, el almacenamiento, transporte y la manipulación en la comercialización se convierten en puntos críticos. Las fallas en la cadena de frio o fallas de los métodos de conservación causan hasta el 50 % mermas. (Paz, 2000). La temperatura es un parámetro que influye enormemente en la alteración de los productos, es importante mantener los productos lácteos como el queso fresco a 4 ºC para reducir la acción de bacteria patógenas y descomposición del alimento, cuando el producto ha perdido la cadena de frío y alcanza temperaturas entre 5 ºC y 55 ºC son ambientes propicios para el desarrollo de *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium*; el manejo de temperatura debe ser conocido por los involucrados en el proceso; pero los comercializadores o vendedores populares de los productos no tienen conocimientos básicos de técnicas o métodos de conservación, no cuentan con las instalaciones adecuadas, peor aún con los equipos necesarios para el control de la inocuidad de los productos. (Hopper, 2009)

Planteamiento del problema .-La situación económica del país pasa por una crisis que en muchos casos los recursos obtenidos no cubre el valor de la canasta básica; en la provincia de Cotopaxi esta situación influye a que exista una desorganización de comerciantes, vendedores ambulantes, instalación de mercados clandestinos que ofertan productos accesibles para la población, la comercialización contribuye a fuentes de ingresos para el sostenimiento de sus familias, pero estas acciones generan alertas y preocupaciones como la inocuidad de los alimentos, elevando el riesgo de enfermedades trasmitidas por los alimentos causando infecciones, intoxicaciones de origen alimenticio, desencadenando la contaminación microbiológica especialmente de productos directos para el consumo humano como es el caso del queso fresco con ello se derivan otros problemas como ocupación de aceras públicas, ocupación o invasión de espacios públicos y privados como parques, entradas de domicilios pasadizos todo esto refleja grandes problemas sociales como mano de obra infantil, competencia desleal entre el comercio formal e informal y la oferta de productos en condiciones no tan favorables eliminando

condiciones de higiene, propiciando contaminación cruzada, afectando notablemente a la calidad de los productos (FAO, 2019).

Las zonas de abastecimiento como el mercado popular de Latacunga son fuentes de empleo, con personas responsables de proveer o transportar alimentos para el consumidor en condiciones higiénicas, estos establecimientos se encuentran en las ciudades de todos los países, algunos de ellos forman parte de una trayectoria turística por la oferta de platos, bebidas típicas del lugar, pero estos espacios enfrentan varios problemas como infraestructura, instalaciones, falta de espacio para almacenamiento, falta de equipos para mantener la cadena de frío, cobertores para productos, extractor de olores; los administradores o representantes de estos espacios no crean el interés o la responsabilidad necesaria para cumplir con la normativa y garantizar la inocuidad alimentaria, en algunos mercados se constituyen monopolios, manejado por intermediarios que elevan el costo o valor de los productos muchas veces provocando adulteración del alimento para bajar precios (Carrada, 2017).

A pesar de que los productos de consumo directo como es el caso del queso fresco tengan un excelente proceso de manufactura, puede contaminarse en el transporte informal como vehículos no motorizados, bicicletas, carros manuales, taxis, transporte público para el traslado de los productos al mercado; ante toda esta dinámica la concepción de las autoridades lo toma como una tradición del lugar o actividades normales de un día de bastante movimiento sin establecer políticas para el manejo, manipulación a pesar de contar con la normativa NTE INEN2687:2013 que establece los requisitos y prácticas que deben cumplir los mercados para la comercialización y elaboración de alimentos inocuos aptos para el consumo humano, esta normativa aplica a todos los mercados mayoristas y minoristas.

La mayoría de la población Latacungueña sobre todo de clase media y baja acostumbra a proveerse de alimentos de los mercados y las afueras de las instalaciones de vendedores ambulantes, ingesta de alimentos que mucho de ellos no cumplen con las condiciones mínimas sanitarias, estas prácticas contribuyen a que la calidad microbiológica empeore; sumando a esto existe la presencia de otros vectores como moscas, parásitos, roedores (Vásquez et al., 2017).

El papel que debe jugar el productor es cumplir con las normativas emitidas por los organismos de control y aplicar el sistema de aseguramiento de la calidad, los transportadores de alimentos deben conservar las condiciones establecidas de los productos mientras se encuentre en el destino hasta llegar al consumidor, el comercializador es el punto más crítico de la cadena, debe cumplir con el estricto protocolo de almacenamiento, continuar con la cadena de frio en el caso de productos lácteos o productos perecederos, manejo de temperaturas para que la calidad del alimento se conserve.(Media, 2018)

Las enfermedades transmitidas por alimentos son una complicación que debe ser considerado en un ámbito de análisis social, económico, político, tecnológico y cultural, es una dinámica generada en el sector público y privado, que siempre debe estar en constante vigilancia, porque de ello depende que la población de los países no desarrolle potenciales problemas de salud que afecta drásticamente a grupos sociales de bajos recursos económicos (Hopper, 2009).

La presente investigación se fundamenta en la evaluación de la calidad microbiológica con la intención que todos los productores cumplan con la legislación vigente, establecer controles para garantizar la calidad e inocuidad de los alimentos y sea más confiable para el consumidor, la cuantificación e identificación de los microorganismos indicadores de la calidad del queso fresco permitirá sugerir técnicas adecuadas de conservación para que producto conserve las propiedades organolépticas y vida útil, evitando riesgo para la salud de los consumidores, manejo de temperaturas, importancia de la cadena de frio, fechas de caducidad, química del alimento, mejorar la condiciones sanitarias transporte, manipulación y comercialización (Mediagroup, 2017).

Problema de investigación. - ¿Los quesos frescos elaborados de manera artesanal expendidos en el mercado cerrado de Latacunga cumplen con la inocuidad alimentaria exigida en el país bajo las normativas vigentes?

Hipótesis. – Los quesos frescos elaborados de manera artesanal expendidos en el mercado cerrado Latacunga cumplen con los requisitos microbiológicos establecidos en la norma NTE INEN 1528:2012.

Objetivos de la Investigación

Objetivo General. - Evaluar la calidad microbiológica de los quesos frescos expendidos en el mercado cerrado Latacunga bajo las especificaciones de la norma general INEN 1528:2012.

Objetivos Específicos

-Definir la población y muestra de la investigación, estableciendo las personas que se dedican a la comercialización de quesos frescos elaborados de manera artesanal en el mercado cerrado Latacunga.

- Determinar los microorganismos indicadores de la calidad microbiológica de las muestras, mediante métodos de recuento rápido con la técnica de placas petrifilm.

-Comparar los resultados obtenidos de las muestras con los requisitos de la Norma Técnica NTE INEN 1528:2012.

Sistema de tareas por objetivos. – Para alcanzar los objetivos se plantea la aplicación de las siguientes tareas y actividades descritas en la tabla 1.

Tabla 1. *Sistema de tareas en relación con los objetivos específicos.*

Objetivo general	**Objetivo específico**	**Actividades**	**Medio de verificación.**
Evaluar la calidad microbiológica en quesos frescos de producción artesanal expendidos en el mercado cerrado Latacunga	Definir la población y muestra de la investigación, estableciendo las personas que se dedican a la comercialización de quesos frescos elaborados de manera artesanal en el mercado cerrado Latacunga.	Documentación de catastro municipal. Revisar el registro de comerciantes documentación de la administración del mercado.	Definición de población y muestra
	Determinar los microorganismos indicadores de la calidad microbiológica de las muestras, mediante métodos de recuento rápido con la técnica de placas petrifilm.	Análisis de laboratorio, determinación de la calidad del producto. Análisis de datos y resultados	Instrumentos de recopilación de información y datos. Aplicación de métodos de recuento rápido a través de la técnica de placas petrifilm
	Comparar los resultados obtenidos de las muestras con los requisitos de la Norma Técnica NTE INEN 1528:2012.	Selección placas viables Cálculo de ufc/g Comparación de resultados Determinación de parámetros permisibles según normativa	Criterio de inocuidad del producto Comparación de resultados con otro trabajo de investigación Discusión de resultados Recomendaciones

Elaborado por: Moreano, N (2021)

El trabajo de investigación inicia con el planteamiento del problema, estableciendo tres etapas como describe la tabla 2.

Tabla 2. *Etapas del problema de investigación.*

Etapa	**Descripción**
Primera	Delimitación del problema
Segunda	Justificación de la investigación
Tercera	Formulación del problema

Elaborado por: Moreano, N (2021)

CAPÍTULO I

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

1.1. Fundamentación del Estado del Arte

Como antecedente de para el presente trabajo se ha identificado estudios A nivel de Latinoamérica como: La Universidad Autónoma de Nuevo León realizó la investigación de Evaluación de la Presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales en tres distritos de Lima Perú en el artículo científico demuestra que fueron analizadas 30 muestras de queso fresco elaborados de manera artesanal en las que se determinó 24 muestras que representan al 80 % presentan Staphylococcus aureus existiendo un elevado riesgo de que los productos presenten enteras toxinas y causar intoxicación estafilocócica (Luján et al., 2006).

El estudio de *Listeria monocytogenes* se presenta en productos lácteos como leche, quesos de masas blandas, esta bacteria encuentra un ambiente propicio en alimentos que contienen pH de 4,1 hasta 9,6 siendo óptimo pH 7.2 a 7.6, es muy resistente a concentraciones de NaCl, no exige condiciones altamente nutritivas, se desarrolla a temperaturas entre 20 ºC y 25 ºC así lo demuestra la Faculta de Ciencias Exactas Química y naturales de Universidad Posadas, Misiones, Argentina en un estudio realizado en la provincia de Misiones en un estudio para determinar la calidad microbiológica recolectados en puntos de venta artesanal en la misma se observó también coliformes fecales totales el 30 % coliformes fecales 12 % presencia de *Escherichia coli* 10 %, ausencia de *Salmonella spp.* llegando a la conclusión que el ambiente propicio en donde se desarrollan estos microorganismos son los procesos de manipulación para la comercialización, conservación (Benassi, 2013).

Existen estudios realizados en Colombia Bogotá, en donde se determina la presencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo procedente de plazas y mercados en donde concluye que los alimentos son el vehículo directo para la trasmisión de los microorganismos, convirtiéndolos en potencial amenaza para la salud de los consumidores y se requiere reforzar programas de control y vigilancia sanitaria en estos centros de concentración masiva de productos, a los mercados ingresan productos de diferente procedencia sin ninguna guía peor control existe una fuerte oferta y demanda sobre todo por el precio y cantidad de los productos (Muñoz et al., 2011).

A nivel del Ecuador se han realizado investigaciones de quesos frescos expendidos en supermercados de la ciudad de Guayaquil, estudio en que analizan quesos frescos, maduros, mozzarella de dos tipos de supermercados las muestras analizadas fueron aquellas que contenían registro sanitario se demostró que existe el 55 % de incidencia de *Listeria spp*, el 0 % de presencia de *Salmonella* spp. y determina que la mayor influencia de contaminación de *Listeria spp* incide en el almacenamiento y exhibición del producto en los frigoríficos de los supermercados; trabajo investigativo de la Escuela Politécnica del Litoral autor Plaza Luis Antonio año 2013.

El siguiente trabajo investigativo es de la Universidad Central de Ecuador, determinación de *Escherichia coli* O157: H7 en quesos frescos sin marca de los mercados del norte de la ciudad de Quito, autor Ulcunago Diana, año 2019, en el trabajo investigó 7 mercados San Roque, San Francisco, Central, San Juan, Eugenio Espejo, Santa Clara, en estos lugares se realizó vigilancia estricta en perchas o puestos de comercialización los mismos que como resultado 35 muestras no se detectaron el 2 % de presencia de *Escherichia coli* O157:H7 mientras que el parámetro permisible es < 10 ufc/g cumplen con la calidad sanitaria requerida en la norma 1528:2012, se detectó como indicador contaminación fecal, deficiencia sanitaria en el proceso de elaboración categorizando el producto como de alto riesgo los resultados son alertas para las autoridades de regulación y control ARCSA y municipios.

Los mercados populares son espacios para el encuentro de la comunidad, es el ambiente en donde existe el intercambio de cultura y tradiciones de la población, por lo que es necesario implementar estrategias adecuadas para garantizar el acceso a alimentos seguros y a la vez fortalezca el desarrollo de la economía popular y solidaria pero a pesar de los esfuerzos de las autoridades de control y regulación estos espacios siguen siendo bastante conflictivos en el manejo adecuado de los productos, algunas causas como falta de presupuestos de los municipios para la remodelación y adecuación de infraestructura, falta de equipamiento y utensilios atentan en contra de la salud y soberanía alimentaria, la ley orgánica de salud en el Art. 147 dispone que la autoridad sanitaria nacional en coordinación con los municipios, establecerá programas de educación sanitaria para productores, manipuladores y consumidores de alimentos que permita fomentar la higiene individual y colectiva y la protección del Medio Ambiente, de la misma manera el COOTAD en el Art. 143 literal establece que los municipios en ejercicio de la competencia de fomento de seguridad alimentaria para ello también se ha emitido la gestión de mercados saludables en la norma técnica NTE INEN 2687 estableciendo requisitos máximos y mínimos para mantener los productos inocuos, sin embargo, no se ha cumplido a cabalidad o que se convierte en un problema de interés social, académico, económico y político (Municipio Quito - Ecuador, 2019).

1.2. Fundamentación Epistemológica.

Según la Organización Mundial de la Salud "la inocuidad de los alimentos es prioridad fundamental para todos los países, asunto en el que deben involucrarse consumidores, productores y el gobierno". La Real Academia Española establece el concepto de inocuo como el carácter obligatorio de no causar daño; para otros autores como Martínez (2005), la inocuidad de un alimento puede ser evaluada por factores de riesgo y niveles de aceptabilidad.

Arispe (2007) "A menudo se confunde la inocuidad con la calidad" la calidad abarca muchos atributos que influyen en la aceptabilidad del consumidor, estas características son: el valor nutricional, propiedades sensoriales, métodos de elaboración y propiedades funcionales (Arispe & Tapia, 2007). Para Rivera Vilas

(1995), la calidad de los alimentos contiene elementos inalterables, la esencia, percepción son características intangibles.

Según Marín, la alteración de los alimentos es el eventual crecimiento de microorganismos patógenos que se originan de las interacciones de la propiedades físicas -químicas del alimento conocidos como factores intrínsecos, así como las condiciones de elaboración, almacenamiento, distribución llamados también factores extrínsecos (Marín, 2017).

Por otra parte, Maurtua, (2003), define que los productos elaborados sin el proceso de pasteurización presentan brotes o están asociados a enfermedades alimentarias que pueden ocasionar infecciones o intoxicaciones. Significativamente se puede reducir el crecimiento de microrganismos con la elaboración industrial control riguroso de materia prima e insumos, aplicar tratamientos térmicos, condiciones higiénicas en el proceso de los productos para eliminar las fuentes contaminación así lo sugiere (Romero & Castillo et al., 2009) .

(Vásquez, et al., 2018),determina que los criterios microbiológicos son valores mínimos y máximos que deben ser considerados siempre para la garantía de la inocuidad de los alimentos, por ellos se debe realizar controles rigurosos y periódicos más aún de aquellos productos que son de consumo directo como el queso fresco.

1.3. Fundamentación teórica

Definición y generalidades

1.3.1. El Queso.

Es el producto obtenido a partir de la coagulación de la leche, para conseguir este efecto se añade cuajo u otras sustancias que permiten la hidrólisis de la lactosa y posterior separación del suero, la leche utilizada para la elaboración de este producto es leche de vaca entera o descremada o en zonas mediterráneas leche de oveja o cabra (Licata, 2020).

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

El queso es empleado como ingrediente en la preparación de una amplia gama de platos en el hogar o en sectores de cáterin y comidas preparadas a nivel industria. Según Ramírez (2010):

> Las propiedades funcionales del queso son un conjunto de indicadores que permiten cuantificar los requisitos de desempeño, que de alguna manera se relacionan con las expectativas o la percepción que el consumidor tiene respecto al producto. (p.40)

El queso comparte las mismas propiedades nutricionales que la leche por su concentración contiene más grasa y proteínas.

Proteínas. -El queso contiene proteínas de alto valor biológico, el porcentaje varía conforme al origen de materia prima que se elabora, pero en cualquier caso la cantidad de proteína que aporta es más elevada que la leche (Inlac, 2018).

Calcio. -Este componente es importante para los seres humanos en la formación de los dientes y los huesos es esencial para el funcionamiento del sistema nervioso, muscular la cantidad necesaria para una persona depende de la edad, un adulto sano requiere 100 mg al día, el queso abarca la mayor concentración de calcio, es importante que sea parte de la dieta de niños y adultos mayores (Inlac, 2018).

Vitaminas. -El queso es un alimento rico en vitaminas Ay D esta es importante para el desarrollo de los seres humanos se encuentran presente vitamina B12, Vitamina B9 o ácido fólico vitamina B1 o tiamina, y Vitamina B2 riboflavina. (Inlac, 2018).

Grasas. -Por cada 100 gramos de queso se puede clasificar en desnatados a aquellos que poseen menos de 10 % de grasa, en magros a aquellos que tienen entre 10 y

24,9 % de grasa, en semigrasos a aquellos que tienen entre 25 y 29,9 % de lípidos en su composición y a los que poseen más de un 30 % de grasa los consideraremos grasos (Gottau,2011).

Las propiedades nutricionales se detallan en la siguiente tabla.

Tabla 3. *Propiedades nutricionales del queso.*

NUTRIENTES	CANTIDAD
Energía (Kcal)	264
Proteína (g)	20.10
Grasa Total (g)	17.50
Glúcidos (g)	3.30
Calcio (mg)	783
Hierro (mg)	1.30
Vitamina A (mg)	420

Fuente. Fundación Universitaria Iberoamericana (2020)

Según la Organización de las Naciones Unidas de la Alimentación y la Agricultura en el año 2020 la producción mundial de leche asciende a 852 millones de toneladas, el consumo per cápita de leche y productos lácteos es mayor en países desarrollados. La India es el primer país que lidera en el mundo en producción de leche con el 4.2 % que representa a 192 millones de toneladas es importante este dato porque lo que vende es solo cantidades marginales de leche y producto lácteo dentro de los mayores productores se ubican Nueva Zelanda, Unión Europea, Estados Unidos (FAO, 2020).

Estados Unidos y Alemania son el mayor productor de queso casi toda la producción es de mercado local, a diferencia de Francia que es el mayor exportador y genera mayor ganancia en valor monetario en cuarta posición se encuentra Italia y en décimo lugar Argentina, el mayor consumo por persona se registra en primer lugar Grecia, Francia, Italia, Suiza, Países Bajos como Austria (Ramírez &Vélez, 2016).

La leche es un producto explotado nivel mundial y su disposición se explica en el gráfico 1 que se muestra a continuación:

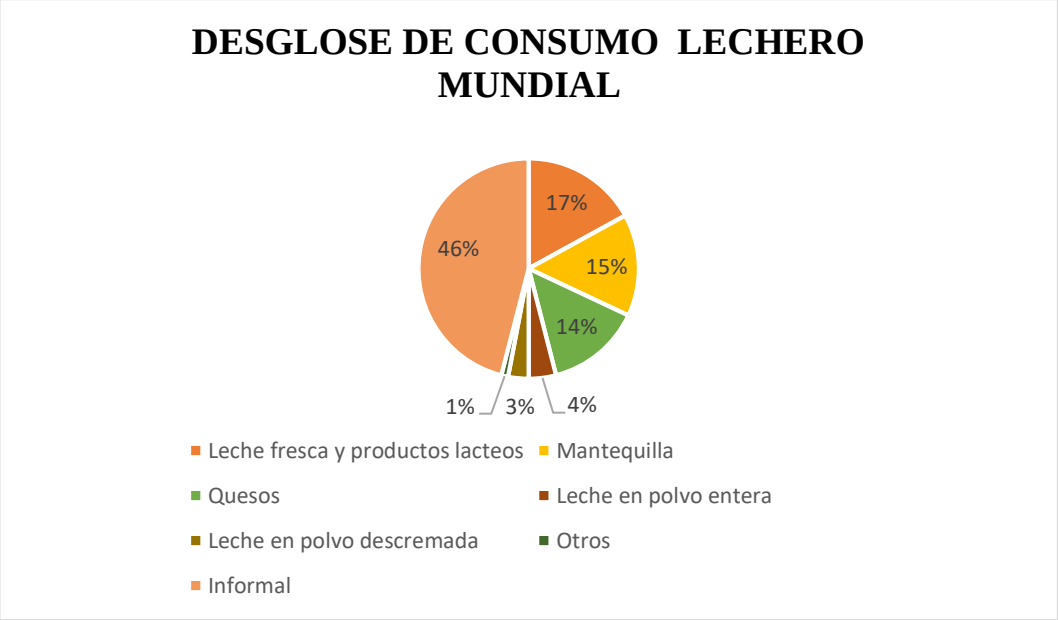

Gráfico 1. *Desglose del consumo lechero mundial*

Fuente. OCLA en base a datos de FIL/IDF: World Dairy Situation (2019).

En el Ecuador la producción de queso ha tomado una dinámica bastante importante la misma que se encuentra en una fase de crecimiento desde el año 2017 gracias al acuerdo con la Unión Europea, el consumo de lácteos en el país es bastante inferior a medida de otros países de Latinoamérica con un consumo per cápita de 90 litros anuales, la disposición de la leche es para la elaboración de quesos en un 37%, que hasta el 2024 se espera una tendencia de crecimiento lo que fue el cierre del año 2017 se produjo 36.260.925 kilos siendo el queso fresco la variedad más producida por el costo de producción, precio de consumo y accesible para la población (Pardillos, 2020).

Los países que más importan quesos ecuatorianos son Francia 32 %, España 26% y Dinamarca el 24% es así como la gran demanda exige nuevos productos que son apetecidos por los países desarrollados los mismos que se explica en la siguiente tabla 4:

Tabla 4. *Innovación de tipos de queso para importación proyección 2024.*

Tipo de Queso	Cupo	Crecimiento
Quesos frescos (mozzarella, requesón y crema)	Excluido	0 toneladas
Queso fundido, rallado, y queso con más del 63,5% de humedad	500 toneladas	25 toneladas anuales
Queso de pasta azul y quesos con menos de 63,5% de humedad, maduros	1000 toneladas	50 toneladas anuales

Fuente. Informe Estudio de mercado queso, Embajada de España (2020)

1.3.2. Características del queso fresco.

El proceso de elaboración es muy sencillo que consiste en acidificar y cuajar la leche, para luego separar la masa del suero conocido también como desuerado del queso , que se lo puede realizar con telas, moldes para la filtración del suero , el queso fresco presenta una textura blanda , suave con sabor parecido a leche fresca, son queso con tiempo corto de consumo , por la composición de agua que contiene entre el 60 % al 80 %, no requieren de un tiempo de maduración , muchas veces no es necesario pasteurizar la leche (Licata, 2020).

Según la Norma Técnica ecuatoriana NTE INEN 1528:2012 establece la siguiente clasificación de acuerdo con la composición y características físicas del producto.

Según el contenido de humedad
- Duro
- Semiduro
- Semiblando
- Blando

Según el contenido de grasa láctea
- Rico en grasa
- Entero o graso
- Semidescremado o bajo en grasa
- Descremado o magro.

De la misma manera estable los requisitos que deben cumplir los quesos frescos detallados en la siguiente tabla 5.

Tabla 5 *Requisitos de quesos frescos no madurados*

Tipo de Queso	Humedad máxima. NTE INEN 63	Contenido de grasa en extracto seco % mínimo NTE INEN 64
Semi maduro	55	
Duro	40	
Semiblando	65	
Blando	80	
Rico en grasa		60
Entero o graso		45
Semidescremado		20
Descremado		0,1

Fuente. Norma técnica ecuatoriana NTE INEN 1528 (2012)

1.3.3. Procesos químicos en la producción de queso

En el proceso de elaboración del queso se produce fenómenos como es la acidificación de la leche y la cuajada los mismos que se producen por la acción de las bacterias con el pH óptimo de 5,2. El segundo fenómeno es la deshidratación que se logra en el proceso de coagulación de la leche y el tratamiento del coágulo. Según García (2011):

> La coagulación de la leche puede ser ácida o enzimática la parte fundamental en este proceso tiene que ver con la caseína que es la proteína de la leche y ocupa el 80% de la fracción nitrogenada, son moléculas conformadas por la unión de aminoácidos, químicamente se define como un fosfocaseinato de calcio estas se precipitan cuando se acidifica la leche y pasa a formar parte del lactosuero y otra parte es altamente hidrofóbico enlazado a las micelas. (p 5).

Producido este efecto inicia la reducción drástica en la carga eléctrica negativa de la superficie de las micelas modificadas, facilitando la segunda fase de agregación de las micelas para formar un gel en la que el calcio cumple el papel de acelerar el proceso.

El proceso de deshidratación y regulación de humedad inicia cuando la leche coagulada esté lista para ser manipulada físicamente Según García (2011):

> La pérdida de agua o suero se realiza mediante el ¨expurgue¨ que se los realiza primero en la tina de elaboración, luego en le prensado donde sale el suero intersticial por presión y acidez de la masa y el tercero en la salmuera

debido a la sal, el desuerado depende de algunos factores como trozado de la cuajada, agitado, cocción (pp 11-13).

Es necesario tener orden y control en todos los procesos principalmente en la acidificación, deshidratación desde la tina hasta la salmuera son fundamentales para un proceso exitoso de elaboración y obtener la calidad del producto.

1.3.4. Alteraciones fisicoquímicas del queso.

***Humedad*. -** La pérdida de humedad provoca deshidratación de las proteínas provocando una mayor interacción de estas causando el endurecimiento de la matriz proteica (Walstra, 1979).

***pH*.** -Este parámetro es necesario controlar por que incide en el sabor y la textura del queso , los rangos óptimos son de 5.1 a 5.9 estos pueden variar según el tipo de queso (Guerra et al., 2014).

La humedad elevada y pH bajo son condiciones de deterior precipitado para la conservación del queso fresco, surge una elevada proteólisis que provoca textura blanda y sabor amargo (Sandoval, 2019).

Acidez.-Si no es controlada provoca cambios en la red de proteina provocando sineresis, puede ser afectada por las circusntancias propias del proceso por la presencia de calcio que en union con la caseina , generan la red proteica.

1.3.5. Alteraciones y defectos en el producto final

El queso fresco se puede elaborar de forma artesanal a partir de la leche cruda de vaca con fermentación espontánea o corta maduración muchas veces se utilizan metodologías rudimentarias no estandarizadas, porque es vulnerable al desarrollo de microorganismos o defectos físicos, en los últimos años se le ha relacionado al queso como el responsable de brotes de intoxicación alimentaria. (Food News Latam, 2016).

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs) son un conjunto de síntomas originados por el consumo de alimentos contaminados que pueden tener

graves o leves consecuencias. El alimento tratado y contaminado se llama vehículo, porque se transporta hasta el consumidor el agente productor de la enfermedad (Núñez, 2010).

Según Núñez el alimento se convierte en vehículo en tres formas:

1. Un contaminante presente en el alimento crudo sobrevive al proceso de producción.
2. La contaminación física, biológica o química, es agregada al alimento durante el proceso de producción.
3. Las bacterias se multiplican en el alimento hasta niveles peligrosos

Mantener la calidad depende mucho del control y monitoreo del proceso esto requiere aplicar técnicas y prácticas de producción sin embargo es muy común enfrentarse algunos problemas y defectos en el producto final. (Mora, 2017).

***Queso terminado excesivamente seco*.-** Este defecto se produce por la cantidad inadecuada de cuajo, corte de cuajada en partículas muy pequeñas, perdida de suero, alta acidez demasiado agitado o elevadas temperaturas en la cocción de la cuajada (Romero,Castillo et al., 2009).

***Hinchazón del queso*.** -Este defecto se produce por presencia de gas anhídrido carbónico o hidrógeno la misma que se produce por la fermentación de microorganismos dando un aspecto esponjoso del queso se puede presentar hinchazón precoz en el tiempo de 3 días, hinchazón tardía en el tiempo de 10 días, en lo quesos frescos presenta grano esponjoso, cuajada flotante, sabor picante, amarga textura abierta (Zendejas-Manzo et al., 2014).

Putrefacción. -El problema se presenta por la acción de microorganismos patógenos causando olores no aceptables provoca coloraciones blancas o cenizas, esto se produce por exceso de humedad (Mora,2017).

1.3.6. Alteraciones microbiológicas del queso fresco y enfermedades de trasmisión alimentaria.

Las enfermedades de trasmisión alimentaria abarcan una serie de problemas en la salud pública y es un tema preocupante a nivel mundial y se presenta cuando hay la ingesta de alimentos contaminados por microorganismos o sustancias químicas, esto se puede presentar en cualquier etapa del proceso de producción hasta el consumo final del producto o también puede influir la contaminación ambiental (OMS, 2020).

La manifestación clínica más común de una enfermedad trasmitida por alimentos consiste en la aparición de síntomas gastrointestinales alguna hasta pueden desencadenar síntomas más graves como neurológicos, ginecológicos, inmunológicos, a tal grado que puede provocar insuficiencia multiorgánica, cáncer o provocar la muerte (Marín, 2017).

Se han descrito cerca de 250 agentes causantes de Etas, que incluyen bacterias, virus, hongos, parásitos, priones, toxinas y metales pesados. Los cambios en los hábitos alimentarios de la sociedad, como el consumo de alimentos envasados, comidas fuera del hogar, expendio de comidas preparadas y comidas rápidas, son factores que contribuyeron al incremento de las enfermedades de trasmisión alimentaria (Zuñiga, 2017).

En el queso fresco se identifican microorganismos beneficiosos denominados probióticos, que ejercen una acción positiva en la salud del consumidor, provocando la colonización rápida del tubo digestivo impidiendo la adhesión de microorganismos indeseables y microorganismos patógenos que causan enfermedades al consumidor, deterioro del producto (Pineda, 2018).

El queso fresco está constituido por una diversidad de bacterias ácido lácticas entre ellos se encuentran *Leuconostoc, Lactobacillus, Streptococcus, Lactococcus* que cumplen una función de producción de sustancias de inhibición de patógenos se encuentran como microflora natural del producto sin embargo este alimento es óptimo para el desarrollo de *Escherichia coli, Salmonella spp, Listeria*

Monocytogenes, *Staphylococcus aureus* los que han sido responsables de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (Castellanos et al., 2019).

Los quesos como alimento se consideran inseguros cuando existe la presencia de microorganismo que atenten contra la salud del consumidor estos pueden estar presentes desde la leche cruda como materia prima o durante el proceso de elaboración, los mismos que depende de los siguientes factores: alimentación de los animales, saneamiento de la planta de fabricación, calidad de agua, higiene de utensilios, manipulación, temperatura, almacenamiento (Castellanos et al., 2019).

El deterioro de los quesos frescos es producido por microrganismos que encuentran condiciones favorables en actividad de agua a_w entre 0.980 a 0.995 acompañado de la temperatura el crecimiento microbiano y la producción de toxinas (Baque, 2019).

Según la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 1528:2012 determina que el análisis microbiológico en quesos frescos debe tener ausencia de microorganismos patógenos, como se detalla en la siguiente tabla.

Tabla 6 . *Requisitos microbiológicos en queso fresco.*

REQUISITO	**n**	**m**	**M**	**c**	**Método de ensayo.**
Enterobacterias, UFC/g	5	$2x10^2$	10^3	1	NTE INEN 1529-13
Eschericha Coli, UFC/g	5	< 10	10	1	AOAC 991.14
Staphylococcus aureus UFC/g		10	10^2	1	NTE INEN 1529-1
Listeria monocytogenes /25 g	5	Ausencia	-	-	ISO 11290-1
Salmonella en 25g	5	Ausencia	-	0	NTE INEN 1529-15

Detalle: **n**= Número de muestras a examinar, **m**= índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad, **M**= índice máximo permisible para identificar nivel de aceptable de calidad, **c**= número de muestras permisibles con resultados entre m y M.
Fuente. Norma técnica ecuatoriana NTE INEN 1528 (2012).

Escherichia coli.- Es una bacteria anaeróbica facultativa, no esporulante, de forma bacilar, que forma parte de la flora natural del tracto gastrointestinal de seres humanos, animales de sangre caliente y aves, por lo que se encuentra en forma abundante en las heces de estos organismos (Sanchez,2019).

Esta bacteria por lo general se encuentra en los intestinos de los seres humanos y los animales y en los alimentos en lácteos de consumo directo como el queso fresco, jugos no pasteurizada, carne, exclusivamente es de origen fecal se transmite por el

contacto de los alimentos o el agua Tiene capacidad para resistir la temperatura de congelación y pH extremo (4.4-9.0), permitiéndole ser un contaminante del agua (Ramírez y Vélez 2016).

La presencia de *E. Coli* en quesos frescos, no pasteurizados implican un riesgo potencial de enfermedades trasmitidas por los alimentos son poco graves sin embargo causan diarrea, infecciones urinarias, enfermedades respiratorias, infecciones sanguíneas, en algunas investigaciones se ha identificado *E. Coli* O157:H7 que produce la toxina Shiga que causa diarrea con sangre, los más vulnerables son niños menores de 5 años adultos mayores, mujeres embarazadas (Romero et al., 2009).

El género *Shigella* son bacilos gramnegativos, anaeróbicos facultativos, no esporuladores, el hábitat propicio son los intestinos de humanos y primates. Se conocen cuatro especies, *Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella boydii* y *Shigella sonnei,* que son bacterias altamente patógenas (Núñez, 2007).

Para controlar la proliferación de *E. coli* en los alimentos, es necesario pasteurizar la leche, refrigerar o congelar rápidamente los alimentos perecederos, no descongelar los alimentos a temperatura ambiente, cocinar carne y pescados a la temperatura requerida para destruir al microorganismo (Gómez-Duarte, 2014).

Staphylococcus aureus. -Esta bacteria posee características de virulencia y daños muy graves, ha desarrollado múltiple resistencia a los antibióticos generando tratamientos más largos y enfermedades trasmitidas por los alimentos, generalmente se presentan por el contacto con las personas que manipulan los alimentos, las intoxicaciones son provocadas por brotes de S. *aureus* coagulasa positiva, capaces de producir enterotoxinas (Avalos, 2014).

Este microorganismo vive con frecuencia en la membrana de la mucosa nasal y la ubre de la vaca, el pH ácido elevada actividad del agua más la concentración de cloruro de sodio favorece el crecimiento del microorganismo en el queso (Díaz & García, 2001).

S. aureus, se clasifica por su forma y tinción como coco grampositivo, se puede identificar por pruebas bioquímicas por lo que el diagnostico de una infección causada por la bacteria se realiza de forma sencilla, los primeros brotes se descubrieron en hospitales europeos al inicio de los años, 70. En los últimos años España ha realizado estudios en donde demuestra que la bacteria es resistente a la Meticilina que es un antibiótico betalactámico de espectro reducido del grupo de las penicilinas (Núñez, 2007).

Producen enterotoxinas que se forman en alimentos bajos en pH, actividad del agua alta y humedad , los síntomas de una intoxicación estafilocócica son náuseas vómito, dolor abdominal, diarrea este cuadro se desarrolla entre 1 y 6 horas después de haber consumido el alimento, pueden presentar otros síntomas como dolor de cabeza, disnea los síntomas persisten 24 horas, en caso severos provoca deshidratación los más vulnerables son niños, personas de la tercera edad y personas con enfermedades graves, se confirma enterotoxinas cuando la carga microbiana es igual o superior a 10^5 ufc /g (Díaz &García, 2001).

Salmonella spp. -Esta bacteria varía en longitud, la mayoría de las especies, excepto *Salmonella pullorumgallinarum* son móviles con flagelos. Crecen en medio simple y casi nunca fermentan la lactosa o sacarosa. Forman ácido y algunas veces gas de la glucosa y manosa. Usualmente produce H2S. Sobreviven en agua congelada por períodos prolongados. Son resistentes a ciertos químicos (verde brillante y tetrationato de sodio) que inhiben otras enterobacterias, por ello es útil incluirlos para aislar Salmonella de las heces (Rodriguez, 2018).

Es uno de los principales patógenos transmitidos por los alimentos, se ha reportado que la presencia de Salmonella spp. en la leche y sus derivados no pasteurizados se debe a factores como la contaminación de las manos del ordeñador, las heces de los animales, la contaminación en el proceso de elaboración, empaque y transporte del queso (Zafra et al., 2016).

Los síntomas suelen presentarse entre los 4 a 7 días provocando diarrea, fiebre, cólicos abdominales, dolor de cabeza, náuseas, vómito, pérdida de apetito, la

salmonela es la causante de la fiebre tifoidea que ocurre muy frecuentemente en Latino América (Zafra et al., 2016).

La Fiebre tifoidea, es el síndrome producido únicamente por algunas salmonelas de las cuales la *Salmonela typhi* es la más importante, cuando es ingerida alcanza el intestino delgado desde introduciéndose en los vasos linfáticos y la sangre. De aquí llega a diferentes órganos, causando afección sistémica como: hepatitis, encefalitis, neumonitis, carditis. El organismo se multiplica en el tejido linfoide intestinal y se excreta en heces. Después de un periodo de incubación de 10-14 días, se observa fiebre, cefalea, dolor abdominal, bacteriemia, leucopenia, manchas rosadas y hepatoesplenomegalia. La perforación o hemorragia intestinal se presentan secundario a la hiperplasia del tejido linfoide en el íleon terminal. La diarrea ocurre en menos del 50% de los casos y como una manifestación temprana de los síntomas (Rodriguez, 2018).

Listeria monocytogenes. **-**La contaminación por *L. monocytogenes* en la leche cruda y en el queso fresco pueden ocurrir de dos maneras; en primer lugar, por las heces del ganado y en segundo lugar por la contaminación inmediata de animales con enfermedades como listeriosis y mastitis. Encuentra un ambiente propicio en alimentos que contienen pH de 4,1 hasta 9,6 siendo óptimo pH 7,2 a 7,6, es muy resistente a concentraciones de NaCl, no exige condiciones altamente nutritivas, se desarrolla a temperaturas entre 20 ºC y 25 ºC, (a_w) superiores a 0,92 (Bayona, 2012).

L. monocytogenes son bacilos gram positivos no esporulados ni ramificados suelen presentarse de forma individual o formando pequeñas cadenas Según Oteo (2016),

> *Listeria spp*. son anaerobias facultativas, catalasas positivas y oxidasas negativas. Las reacciones de Voges-Proskauer y rojo de metilo son positivas. Hidrolizan la esculina en pocas horas, pero no la urea ni la gelatina; no producen indol ni SH2. Producen ácido de la D-glucosa y de otros azúcares. El contenido de guanina-citosina de su ADN es bajo, entre el 36% y el 38%. (p.1)

Es un microorganismo cosmopolita, de carácter localizador se encuentra en suelos, vegetales, pastos, explotaciones ganaderas, pudiendo llegar a sobrevivir entre 1 y 2 años en el medio ambiente. Tanto los humanos como los animales pueden actuar como portadores asintomáticos, evidenciándose su presencia en 3 a 30% de los casos evaluados (Aurelio et.al, 2000).

L. monocytogenes presenta la capacidad de formar en superficies donde han quedado residuos orgánicos, lo cual dificulta la acción de los higienitizantes (Orihuel,2014).

Es el agente causal de la Listeriosis, una de las enfermedades más importantes adquirida en el 99% de los casos por el consumo de alimentos contaminados. En el hombre se reconocen dos tipos de Listeriosis: invasiva y no invasiva. La primera produce la mayor tasa de hospitalización y de mortalidad entre el (60%-80%), la segunda produce gastroenteritis con baja tasa de hospitalización y mortalidad (MSPB, 2013).

Esta bacteria ingresa al organismo a través del tracto intestinal, una vez en el cuerpo, atraviesa la barrera mucosa del intestino por endocitosis activa las células endoteliales, para llegar al torrente sanguíneo afecta al sistema nervioso central (Centurion, 2014).

La refrigeración de los alimentos como método para la prolongación de vida útil ha generado condiciones para el crecimiento microbiano, por la naturaleza ubicua y psicotrópica la temperatura y tiempo de almacenamiento son factores que deben ser tomados muy en cuenta para minimizar el crecimiento microbiano, el contacto con superficies contaminadas y la adhesión de materiales también influyen el desarrollo de Listeria, se debe prevenir la formación de depósitos de agua en cuartos fríos y sifones en áreas de almacenamiento, garantizando programas apropiados de limpieza y desinfección para prevenir la formación de biopelículas (Colombia, 2010).

Se debe prevenir la formación de depósitos de agua en cuartos fríos y sifones en áreas de almacenamiento, garantizando programas apropiados de limpieza y desinfección para prevenir la formación de biopelículas (Colombia, 2010).

1.3.7. Influencia de la cadena de frío en el transporte, almacenamiento del queso y el crecimiento microbiano.

El frío se aplica en múltiples procesos industriales, es el método de conservación más antiguo del mundo. Según Romero y Alioscha (2013),¨ Manejar una temperatura inadecuada en la refrigeración de los lácteos puede acelerar la actividad microbiana, lo cual deriva en productos de mala calidad ¨ (p.1) es importante aplicar de forma adecuada y óptima del suministro de frío para garantizar productos inocuos y de calidad.

La cadena de frío es la sucesión de procesos logísticos con temperatura controlada en los diferentes procesos de refrigeración o congelación de forma segura hasta que llegue al consumidor según Romero (2014),

La temperatura es una variable importante para el crecimiento de los microorganismos los mismo que se pueden clasificar en hipertermófilos, termófilos, mesófilos y psicrófilos. Los hipertermófilos se desarrollan en un rango de temperatura de 65 y 115 °C; los termófilos entre los 45 y 65 °C, los mesófilos entre los 10 y 45 °C y los psicrófilos poseen una temperatura óptima de crecimiento de 15 °C o inferior, también existe otro tipo de microorganismos con una temperatura de crecimiento óptima entre los 20 y 40°C, pero que pueden crecer a los 0 °C, los cuales reciben el nombre de psicrotolerantes.(p.2) ; los puntos de control se identifican en el gráfico 2.

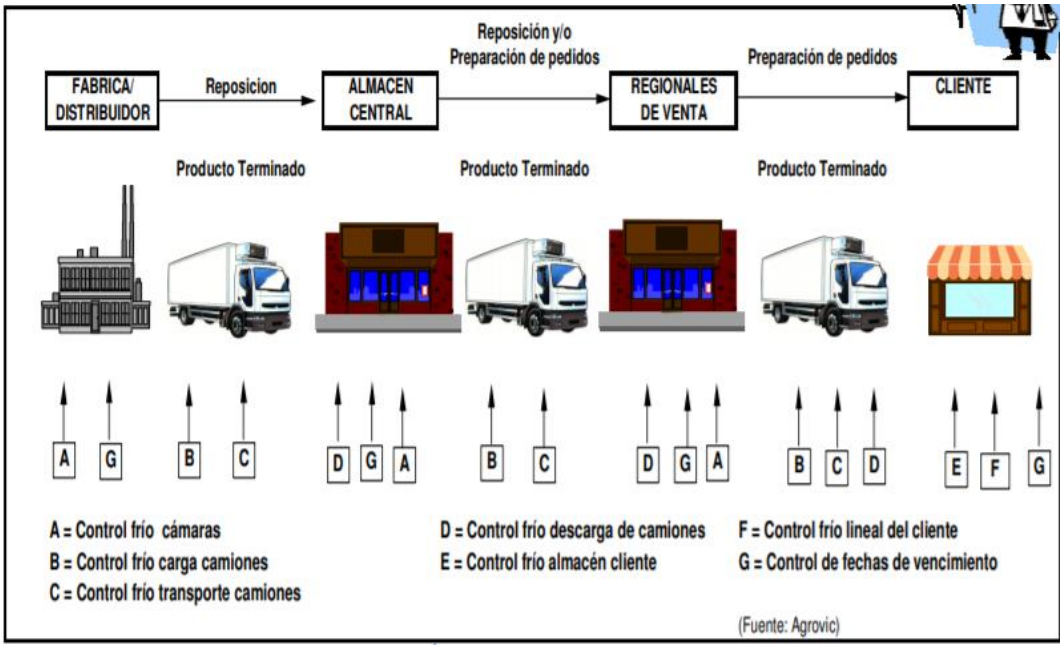

Gráfico 2. *Puntos de control de temperatura en la cadena de frio*
Fuente: Logística de cadena de frio (Navarro, 2013)

Es importante recalcar que los microorganismos psicotrópicos crecen en ambientes fríos y mueren rápidamente cuando se exponen a temperaturas ambiente, estos microorganismos aparecen y desaparecen en los productos.

La cadena de frío inicia desde el producto terminado y debe mantenerse en las fases de trasporte, almacenamiento, manipulación, es fundamental llevar el control y la cadena de frío para evitar las alteraciones del producto, mantener la calidad sanitaria del mismo. A pesar de los equipos de última tecnología que se utilicen, la cadena de frío no será útil si las personas encargadas del proceso no conocen de los principios de operación, funcionamiento y responsabilidad. (Alioscha, 2014).

De acuerdo con (Navarro, 2013), El trasporte de alimentos debe cumplir con algunos criterios como:

Rapidez. -Para dirigir el producto al destino con una mínima perdida o afectación en la vida útil del producto.

Seguridad. -Proporcionar la protección del producto mantenido la temperatura adecuada o sugerida en las especificaciones del alimento.

Adaptabilidad. – A las exigencias de protección y cuidado a las variables de un producto según sus características organolépticas, frescura, presentación.

Se debe tener en cuenta que los equipos de instalados en el vehículo deben estar diseñados para extraer el calor del sol, calor de las corrientes de aire y el calor del producto.

Gráfico 3. *Función de los equipos de frio instalados en el transporte*
Fuente. Logística de cadena de frio (Navarro, 2013).

El queso fresco una vez envasado se debe conservar refrigerado a una temperatura óptima de 2ºc a 5ºC, en estas condiciones el tiempo de vida útil es de 30 días, la cámara de almacenamiento se debe mantener limpia sin aplicar productos de limpieza o sustancias que afecten el olor o color del queso (Pechon, 2019).

La cadena de frio debe ser aplicada una vez que se ha concluido con el proceso de elaboración, posteriormente en las fases de distribución, almacenamiento y manipulación se convierten en puntos críticos y de observación para determinar la calidad del producto y la percepción del cliente, estos procesos están sujetos a personas que no conocen o no aplican correctamente los principios y operaciones para la conservación del producto (Rubio, 2011).

Cuando los productos lácteos son sometidos a tratamientos térmicos como la pasteurización se prolonga la vida útil, disminuyendo microorganismos presentes de forma natural. La gravedad de la operación refleja cuando estos nos son almacenados en condiciones adecuadas como refrigeración en el caso del yogur, queso dos horas del procesamiento si no están en refrigeración inicia procesos de

acidez, reducción de vida útil, perdida de características organolépticas (Romero, 2017)

1.4. Seguridad microbiológica de los alimentos.

El Food and Feed Safety Aerts (RASFF) reporta que el 50% de alertas son por la contaminación microbiológica de los alimentos, los principales retos en seguridad son el control microbiológico y mantener el consumo de alimentos inocuos la prevalencia de microorganismos patógenos en alimentos son *Salmonella* spp, *L. monocytógenes, Campylobacter* o virus entéricos, que están presentes cada día con el nuevo estilo de consumo de alimentos (Ortuño, 2019).

El consumidor tiene derecho a una alimentación saludable, por lo que integra elaborar alimentos con menos concentraciones de conservantes o productos menos severos a tratamientos químicos o sintéticos, pero en la actualidad estos temas van cambiando por las tendencias en las dietas, consumo de alimentos crudos por lo que se presenta mayores problemas en la seguridad microbiológica de los alimentos, trayendo como consecuencia toxiinfecciones, alergias, dermatitis cálculos renales (Ortuño, 2019).

Existen muchos factores que inciden en la cadena de producción de un alimento desde el proceso de elaboración hasta el consumo, resulta muy difícil de garantizar, sin embargo conocer el grado de riesgo de un alimento especialmente de aquellos de consumo directo es de gran ayuda para la prevención de enfermedades, especialmente para los sectores más vulnerables por que los estudios realizados sobre el tema es fundamental difundirlos para generar política de control para obtener alimentos inocuos(Food News Latam, 2016).

Los criterios microbiológicos son importantes para evaluar al producto. Según FAO (2016):

El criterio microbiológico para un alimento define la aceptabilidad del producto o lote, proceso del alimento, necesariamente analiza la ausencia, presencia o cantidad de microorganismos, toxinas, metabolitos por unidades de masa, superficie o lote.

La aceptabilidad de las muestras microbiológicas está asociado a una cantidad obtenida y expresada muchas veces de forma incomprensible. (p. 1)

1.5. Seguridad alimentaria e inocuidad de los alimentos.

La seguridad alimentaria, abarca a la inocuidad de los alimentos como también los sistemas de gestión normalizados manifiesta Según Food Safety, s. f. (2018) que:

> Actualmente la cadena alimenticia es larga y se ha convertido en una¨carretera que traspasa fronteras¨hay muchas personas implicadas en el proceso que adquieren responsabilidad hasta llegar al final de la cadena. por lo que la aplicación del CODEX ALIMENTARIUS es el código de la alimentación que se creó con la finalidad de proteger al consumidor y garantizar el comportamiento correcto en el mercado y la aplicación de normas alimentarias. Bajo este concepto se aplica la inocuidad de los alimentos con la finalidad de garantizar de no hacer daño como responsabilidad compartida, si no que genere valor agregado tanto al producto como al consumidor. (p. 1-4).

La seguridad alimentaria es garantizar en todo momento el acceso físico y económico a suficientes alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer necesidad alimenticios y llevar una dieta sana y equilibrada.es importante la disponibilidad de los alimentos, el suministro estable e inocuo que alcance al bienestar de los consumidores.

Los alimentos pueden contaminarse en cualquier momento o etapa la manipulación de los productos tanto en la industria como en el mercado es imprescindible para prevenir las enfermedades transmitida por alimentos (Mitchell, 2019).

Por las mismas razones se debe aplicar medidas como:

- Mantener la higiene en toda la cadena alimenticia.
- Separar los alimentos crudos de los cocidos.
- Cocer los alimentos el tiempo establecido o recomendado
- Mantener la temperatura según la necesidad de los alimentos
- Utilizar agua potable o agua hervida para lavar y preparar alimentos.

1.6. Responsabilidad compartida de la inocuidad de los alimentos

Aplicar adecuadamente la seguridad alimentaria implica requisitos y normativas de cumplimiento obligatorio, por lo que se transforma en una tarea muy compleja que intervienen diversos involucrados que deben estar coordinados correctamente para alcanzar los resultados esperados (MetalBoss, 2019).

Gobierno. -Es el rector de las actividades y diseño de las políticas públicas a aplicarse a través del marco normativo relacionado con el manejo, manipulación de los alimentos y la vigilancia del cumplimiento estricto, propiciar las condiciones ambientales, físicas, infraestructura para la comercialización de los productos.

Productores. -Dar cumplimiento a los reglamentos establecidos por los entes de control para generar garantías de calidad e inocuidad de los alimentos.

Transportadores. -Proveer las condiciones sanitarias en las normativas gubernamentales, asegurar la conservación adecuada de los alimentos y no romper la cadena de frío de los alimentos que lo necesitan durante el trayecto hacia los diferentes distribuidores.

Distribuidores. -Dar cumplimento a las normativas, garantizar la conservación, almacenamiento de los productos, aplicar técnicas y prácticas para la preparación, cocción de los productos.

Consumidores. -Ser vigilantes de que los lineamientos establecidos para los alimentos en todas las etapas sean correctos de forma que el alimento que consuma no cause daño.

1.7. Mercados saludables en el Ecuador

Los mercados son lugares de encuentro porque es la identidad de las actividades comerciales y sociales de la comunidad en la que engloba cultura, tradición, costumbre, estos espacios favorecen realizar actividades comerciales que permiten generar fuentes de trabajo y recursos económicos, es responsabilidad de los gobiernos autónomos municipales mantener y generar el lugar adecuado para el expendio de los productos de primera necesidad (Vaca, 2016).

La constitución de la república del Ecuador Art. 32 establece Garantiza el derecho a la salud en el mismo se refiere al acceso al agua , alimentación , de la misma manera el artículo 281 establece velar por la soberanía alimentaria el consumo de alimentos sanos El Código Orgánico de Organización Territorial, Autonomía y Descentralización (COOTAD), en su artículo 54, literal l) establece que una de las funciones de los GAD es: "Prestar servicios que satisfagan necesidades colectivas respecto de los que no exista una explícita reserva legal a favor de otros niveles de gobierno, así como la elaboración, manejo y expendio de víveres; servicios de faenamiento, plazas de mercado y cementerios" (Guevara, 2016).

En Ecuador las autoridades del ministerio de salud pública establecen una normativa para los mercados municipales a los administradores y a los manipuladores de alimentos, actores que cumplen actividades vitales en el proceso de certificación de los mercados, basados en la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 2687:2013 Mercados saludables. Se excluyen las ferias libres, plataformas de comercialización, supermercados y micro mercados (Vaca, 2016).

El cumplimiento de requisitos para el reconocimiento y la certificación de un mercado saludable. Está normado por fichas que contienen lineamientos y recomendaciones para realizar adecuaciones a un mercado con base en el análisis de su estado actual y los requisitos de un mercado saludable estipulados en la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 2687:2013. Mercados Saludables.

Requisitos.

-Requisitos relativos a la infraestructura
-Requisitos relativos a los servicios
-Requisitos relativos a los equipos y utensilios
-Requisitos relativos a la adquisición, comercialización, transporte, recepción y almacenamiento de alimentos
-Requisitos relativos al puesto de comercialización
-Requisitos relativos a la preparación de los alimentos
-Requisitos de higiene del comerciante de alimentos
-Requisitos relativos a la limpieza y desinfección

-Requisitos relativos al control de plagas
-Requisitos relativos a capacitación
-Requisitos relativos al control y aseguramiento de la inocuidad
-Recomendaciones para la promoción de la salud:

De acuerdo con el Ministerio de Salud Pública, en el Ecuador existe un número importante de enfermedades transmitidas por alimentos. Conforme al Anuario de Vigilancia Epidemiológica 1994-2014, en el 2014 se registraron 542.569 casos de enfermedades ETA (Enfermedades de Transmisión Alimenticia) lo que equivale a tres de cada 100 habitantes que han presentado estas enfermedades. Del total de casos registrados, el 96% fue por enfermedades diarreicas, seguido de intoxicación alimentaria (2%) y en menor cantidad se encontraron casos de hepatitis A, infecciones debido a salmonella y fiebre tifoidea y paratifoidea (Granda Juan, 2015). Por lo tanto, con esta propuesta se busca disminuir la carga de atenciones en el sistema de salud causada por enfermedades transmitidas por agua y alimentos.

1.8. Métodos rápidos para el recuento de microorganismos indicadores

El análisis microbiológico suele ser una tarea que consume tiempo y trabajo, en la actualidad la industria ha desarrollado métodos rápidos y fáciles para cuantificar los microorganismos tomados de alguna matriz alimenticia.

El recuento de células viables, tanto de los alimentos como de las superficies en contacto con los mismos y del aire de las industrias alimentarias, es uno de los parámetros más importantes a la hora de determinar la calidad y seguridad de los alimentos. Tradicionalmente, el recuento de células viables se ha realizado mediante el método estándar de recuento en placa, que, aunque sencillo, es laborioso, requiere un volumen considerable de tubos de ensayo y medio de dilución, y espacio para el almacenamiento y la incubación de las placas de cultivo. (Herranz, 2018).

-Placas petrifilm. **-** Método microbiológico que consiste en una familia de placas listas para usarse diseñadas para ofrecer ahorro de tiempo, incremento de productividad, fiabilidad y eficiencia. Su diseño tiene una película rehidratante

cubierta con nutrientes y agentes gelificantes. Proporciona resultados en tres pasos: inoculación, incubación y recuento. Las Placas Petrifilm™ están disponibles para la mayoría de las necesidades de pruebas microbiológicas incluyendo: recuento de aerobios, recuento de coliformes, recuento de *E.coli* / coliformes, recuento de Enterobacterias, recuento de alta sensibilidad de coliformes, recuento rápido de coliformes, recuento de *Staphylococcus aureus*, recuento de mohos y levaduras y *Listeria* en ambientes (Zuñiga, 2017).

Esta técnica esta validada por La AOAC es una asociación científica con 120 años de antigüedad, formada por numerosos científicos miembros de más de 90 países, cuya finalidad es la confianza a nivel mundial en los resultados analíticos. La Asociación, se dedica aldesarrollo y validación de métodos en ciencias analíticas y mejorar los programasde aseguramiento de calidad de los laboratorios (3M, 2005). Esta asociación participa activamente en asuntos regulatorios de nuevos métodos y técnicas, es líder internacional en los procesos de evaluación de Métodos Analíticos que abarcan temas como inocuidad alimentaria, materiales de agricultura, alergenos en alimentos y desinfectantes.

1.9. Conclusiones Capítulo I

La literatura consultada sustenta teóricamente la elaboración del presente proceso de investigación.

El sustento teórico afianza los conocimientos acerca de los elementos de investigación: evaluación de la calidad microbiológica del queso fresco, riesgos y enfermedades de trasmisión alimenticia, inocuidad de los alientos, seguridad alimentaria parámetros microbiológicos mínimos máximos en el queso fresco expendidos en los mercados populares.

El estado del arte consolida las bases teóricas por epígrafes para el desarrollo de la investigación.

CAPITULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Metodología de la investigación

El enfoque de la investigación es descriptiva, se recolectaron muestras de quesos frescos expendidos en el mercado cerrado Latacunga para el análisis y recuento de microorganismos indicadores que en función de parámetros permisibles se determinó la inocuidad del producto, la dinámica del estudio permitió la observación de las actividades de comercialización , así como la exposición directa del producto en el ambiente, modo de transporte, manipulación , almacenamiento, utensilios utilizados que son variables determinantes para la calidad del producto, para determinar el número de muestras se identificaron los locales comerciales que expenden el producto y las condiciones de higiene del lugar y del vendedor , los resultados obtenidos dieron respuesta a las causas eventos o situaciones de los riesgos de salud que afecta al consumidor , esta investigación se desarrolló en las instalaciones de la Universidad Técnica de Cotopaxi, Laboratorio de microbiología, ubicado en la cuidad de Latacunga.

El método Cuantitativo se aplicará para la medición de las variables dependiente e independiente planteadas y la comprobación de las Hipótesis a través de las teorías científicas.

El método Cualitativo permitirá el estudio de la dinámica y desarrollo de las actividades comerciales de los productos de consumo directo para determinar los efectos en la de la calidad de los productos expendidos en el mercado cerrado de Latacunga.

2.2. Diseño de la investigación.

2.2.1. Definición la población.

El mercado cerrado de Latacunga se encuentra situado en la provincia de Cotopaxi cantón Latacunga, agrupa aproximadamente 500 comerciantes, actualmente está diseñado con tres pisos donde se desarrollan las actividades de acopio y comercialización de productos distribuidos de la siguiente manera:

Primer piso: cuenta con 222 comerciantes que desarrollan actividades de comercialización de: papas, hierbas medicinales, legumbres, frutas, canastos, huevos, aliños, flores, abarrotes, productos plásticos, confitería, panela, alimentos preparados como: colada morada, pan, canguil, costura y la oficina de vigilancia consta de 2 puertas principales.

Segundo piso: Cuenta con 155 comerciantes que desarrollan actividades de comercialización de productos cárnicos como: pollos, pescado, carne de res, carne de cerdo, mariscos, pescado, cangrejo, camarón productos lácteos como: Leche, queso fresco, queso maduro, queso mozzarella, crema de leche, mantequilla, yogurt, manjar de leche, cuajada, abarrotes, productos plásticos, confitería, chocolate, dulces, aguas medicinales, pan, tortillas, productos naturales, artesanía o adornos

Tercer piso: cuenta con 117 comerciantes que desarrollan actividades de comercialización como: comida preparada, comida rápida, refrescos, jugos, frituras, motes, chochos, encebollados, almejas, café molido entre otros productos.

Para el desarrollo de la investigación se definió como objeto de estudio el segundo piso del mercado cerrado Latacunga, donde se encuentra el área de lácteos, en esta se pudo identificar que actualmente existen 8 puestos de comercialización de en donde ofertan quesos frescos como detalla el gráfico 4; antes de tomar las muestras se registró las condiciones previas de las condiciones higiénicas registrada en fichas de observación de caracterización de la muestra , locales de comercialización y comerciante o manipulador.

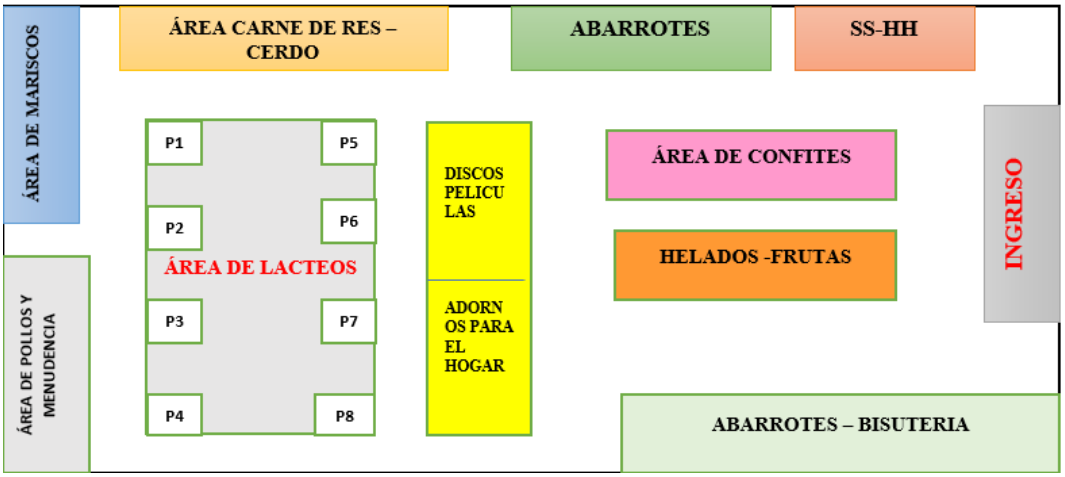

Gráfico 4. *Distribución de áreas de comercialización segundo piso del mercado cerrado Latacunga.*

Nota: Moreano, N (2021)

2.2.2. Cálculo de la muestra, procedimiento y codificación

Las muestras en horas de la mañana de un día de feria, minutos después del transporte y ubicación del producto en los puestos de comercialización. El muestreo se realizó durante 4 semanas para identificar la presencia de los microorganismos y su variabilidad conforme el tiempo, realizando el muestreo en las siguientes fechas.

- Semana 1: Del 05 al 09 de julio del 2021.
- Semana 2: Del 12 al 16 de julio del 2021
- Semana 3: Del19 al 23 de julio del 2021
- Semana4: Del 26 al 30 de julio del 2021

Las muestras de quesos frescos se tomaron siguiendo las especificaciones en la NTE INEN-ISO 707 para leche y productos lácteos en donde determina el protocolo para la recolección de muestra desde los locales de comercialización al laboratorio de microbiología aplicando técnicas asépticas, desinfección del personal, las muestras fueron guardadas en bolsas de plástico estériles selladas y codificadas, posteriormente se colocaron en un cooler de alimentos con hielo seco para la conservación y temperatura hasta el traslado de las muestras al laboratorio y con la finalidad de que no produzca ninguna alteración hasta comenzar el procedimiento de análisis microbiológico.

Para el cálculo del número de muestras se basó en lo establecido en la NTE INEN 1528:2012 donde indica que para el análisis microbiológico de quesos frescos no madurados el número de muestras a examinar (n) es 5 por lo que se seleccionó aleatoriamente 5 muestras de quesos frescos sin marca de 8 puestos de comercialización, para el estudio fueron seleccionados muestras entre 300 y 500g posteriormente fueron codificadas con un sistema alfanumérico como detalla en la tabla 7.

Tabla 7. *Codificación de muestras de queso fresco.*

Número de local.	Número de muestras analizadas	Codificación por muestra
Local 1	5	S1-L1 S2-L1 S3-L1 S4-L1 S5-L1
Local 2	5	S1-L2 S2-L2 S3-L2 S4-L2 S5-L2
Local 3	5	S1-L3 S2-L3 S3-L3 S4-L3 S5-L3
Local 4	5	S1-L4 S2-L4 S3-L4 S4-L4 S5-L4
Local 5	5	S1-L5 S2-L5 S3-L5 S4-L5 S5-L5
Local 6	5	S1-L6 S2-L6 S3-L6 S4-L6 S5-L6
Local 7	5	S1-L7 S2-L7 S3-L7 S4-L7 S5-L7
Local 8	5	S1-L8 S2-L8 S3-L8 S4-L8 S5-L8

Elaborado por: Moreano, N (2021).

Para el transporte de las muestras es necesario prevenir olores extraños, exposición a la luz solar, mantener la temperatura de almacenamiento del queso fresco de 1°C a 4°C, el tamaño mínimo de muestra para el análisis microbiológico en laboratorio es de 100 g.

2.2.3. Materiales, equipos y reactivos.

Muestra.

- Queso fresco

a. Materiales

- Bolsas plásticas Ziploc
- Erlenmeyer de 1000 ml
- Probeta de 100 ml
- Gradilla
- Pipetas de 10 ml
- Pera de succión
- Micropipeta de 1000 ul
- Puntas para micropipeta de 1000 ul
- Tubos de ensayo estériles
- Toallas de papel
- Papel aluminio
- Azas de inoculación
- Dispersor para placas Petrifilm

b. Reactivos

- Agua peptonada
- Agua destilada
- SEB500 Caldo base salmonella
- SESUP Suplemento 1 g salmonella
- 3M Placas PetrifilmTM para recuento de *S. aureus*
- 3M Placas PetrifilmTM para recuento de *E. coli*/Coliformes Totales
- 3M Placas PetrifilmTM para recuento de Enterobacterias
- 3M Placas PetrifilmTM para presencia / ausencia de *Listeria monocytogenes*.
- 3M Placas PetrifilmTM para presencia/ ausencia de Salmonella

c. Equipos

- Autoclave
- Cámara de flujo laminar
- Incubadora
- Balanza analítica
- Contador de colonias electrónico

2.3. Determinación los microorganismos indicadores de la calidad microbiológica.

Las muestras de queso fresco tomadas en el mercado cerrado de Latacunga fueron analizadas a través del método de recuento rápido de microorganismos aplicando la técnica de placas petrifilm ™ de 3M ™, estas placas están diseñadas con tecnología avanzada listas y fácil de usar, reduce tiempo, están listas para inocular, cada una de estas placas contiene colorantes indicadores del crecimiento de los microorganismos y facilita el recuento de colonias a comparación de los métodos tradicionales con la preparación de agares, la metodología utilizada para la investigación cuenta con la validación de AOAC Internacional (Asociación Internacional de Químicos Analíticos), es una asociación científica privada fundada en 1884; las líneas de acción de la organización es el desarrollo y validación de métodos analíticos a través de consensos, mejoramiento de los procedimientos de laboratorios, desarrollo y promoción de criterios para alcanzar estándares de acreditación de los laboratorios analíticos. Los métodos de la AOAC son reconocidos internacionalmente como recurso autorizado debido al riguroso proceso de validación al que fueron sometidos, son adaptados por otras organizaciones internacionales de normalización como ISO, Comisión del Codex Alimentarius, Federación Internacional de Lechería (IDF), Comité de estandarización europeo (CEN), Asociación Americana de Químicos de Cereales, Comité Nórdico de Análisis de Alimentos entre otros.

Para realizar el análisis microbiológico se aplicó un procedimiento para cada muestra de queso fresco y por cada microorganismo, el material a utilizar fue previamente esterilizado para evitar la contaminación o alteración de la muestra, de la misma manera se utilizó mandil, cofia, mascarilla, guantes para el proceso y manipulación de las muestras, también se realizó la desinfección de las mesas de trabajo y equipos del laboratorio.

Preparación de la muestra.

-Limpiar con alcohol las bolsas plásticas Ziploc que contienen las muestras.
-Abrir las fundas o empaques originales del producto.
-Colocar el queso fresco sobre una superficie limpia utilizar como base papel aluminio.
-Realizar el cuarteamiento de la muestra, obteniendo un corte triangular desde el centro hacia el extremo
-Pesar 50g de muestra
-Colocar la muestra una bolsa plásticas Ziploc, triturar hasta obtener una masa homogénea.
-Pesar 10 g de la masa y colocar en los medios estériles preparados para trabajar con las diluciones.

Preparación de las diluciones decimales.

Las diluciones se prepararon en referencia a la norma NTE INEN 1529:2 y según las guías de aplicación para análisis microbiológico 3M™ Petrifilm™ donde determina la metodología de la AOAC por cada microrganismo.
-Preparación de 90 ml de agua peptonada estéril (115 °C, durante 15 minutos).
-Colocar 10g de muestra agitar hasta homogenizar, de esta manera se obtuvo la dilución madre.
-Para preparar las diluciones correspondientes a cada microorganismo, trasferir 1ml de la dilución madre a un tubo de ensayo con 9ml de agua peptonada obteniendo la dilución 10^{-1} seguidamente trasferir 1ml a otro tubo de ensayo con 9ml de agua peptonada para obtener la dilución 10^{-2} así sucesivamente.
-Para iniciar la investigación todas muestras se aplicó la dilución 10^{-1} para determinar el grado de contaminación e iniciar con las diluciones por cada microorganismo conforme la normativa y el método.

Tabla 8. *Diluciones por microorganismo.*

Microrganismos	Diluciones
Enterobacterias.	10^{-1}, 10^{-2},10^{-3}
Escherichia coli,	10^{-1},10^{-3},10^{-5}
Staphylococcus aureus	10^{-1},10^{-3}
Listeria monocytogenes	10^{-1} Hisopado
Salmonella	Solución madre – siembra por estriado

Elaborado por: Moreano, N (2021).

2.4. Determinación de bacterias *Enterobacterias, E. coli/coliformes, Staphylococcus aureus,* por la técnica de Placas Petrifilm 3M.

Procedimiento de inoculación de muestras.

-Rotular las placas petrifilm en la parte inferior, para identificar las muestras analizadas.

-Utilizar la cámara de flujo laminar para proporcionar aire limpio y constante el uso correcto de la cámara evitara la contaminación de las muestras.

-Utilizar una superficie plana y a nivel para sobreponer las placas petrifilm

-Elevar la película transparente superior agregar 1ml de dilución de la muestra, con una micropipeta en forma perpendicular en el centro de la placa.

-Deslizar la película superior sobre la base de la placa de forma lenta para no atrapar burbujas de aire.

-Sobre la superficie de la placa presionar con el disco dispersador, para distribuir el inoculo sobre el área, antes de la formación del gel en la placa.

-Incubar las placas preparadas con la superficie trasparente hacia arriba, se pude colocar una sobre otra no más de 10 a 15 placas para mejores resultados.

-Después del tiempo y temperatura adecuada según el microorganismo se procedió al conteo en cada placa, el procedimiento se realizó con la ayuda de un contador de colonias electrónico.

-Calcular las UFC/g. por cada una de las placas analizadas.

2.5. Determinación de *Salmonella* por la técnica de Placas Petrifilm 3M.

El sistema 3M™ Petrifilm™ *Salmonella Express* (SALX) es una prueba cualitativa para la detección de patógenos que se usa para la detección rápida y confirmación bioquímica de *Salmonella* en muestras enriquecidas de alimentos y ambientes en plantas de alimentos.

El sistema 3M™ Petrifilm *Salmonella* Express consiste en:

-Enriquecimiento Base para *Salmonella* y 3M™

-Suplemento para enriquecimiento en medios exclusivos para la recuperación y el desarrollo de las especies de *Salmonella*

-La Placa 3M™ Petrifilm™ *Salmonella* Express es un sistema con medio de cultivo cromogénico listo para el análisis que contiene un agente gelificante soluble en agua fría que es selectivo y diferencial para *Salmonella,* que permite proveer un resultado presuntivo

-El Disco de Confirmación 3M™ Petrifilm™ *Salmonella* Express: es un sustrato bioquímico que facilita la confirmación bioquímica de los organismos *Salmonella*.

Para realizar el análisis microbiológico de Salmonella, determina la norma NTE INEN 1528:2012 que el número de muestras a examinar son n5, por lo cual se realizó el monitoreo de 4 semanas, de cada local de comercialización de queso fresco, se tomaron 20 muestras, obteniendo en laboratorio 160 muestras.

Para determinar presencia o ausencia de Salmonella en el producto se estableció 2 indicadores importantes color de colonia en donde se puede observar que la mayoría de las colonias presentaron coloración roja y el metabolismo de la colonia en la mayoría de las placas se observó que reaccionaron provocando en la placa una zona amarilla con presencia de burbujas de gas.

Procedimiento de enriquecimiento

-Disolver en 1000 ml de agua destilada 37g de polvo de caldo de enriquecimiento base para Salmonella mezclar hasta obtener un líquido homogéneo

-Llevar a la autoclave a 121°C por 15 minutos.

-Una vez autoclavado el líquido se debe temperar el medio y revisar el pH este debe alcanzar 7.0±0.2 a 25°C, si no cumple este parámetro el líquido debe ser rechazado y preparado nuevamente.

-Agregar 0.05g de suplemento de *Salmonella* en el caldo base de enriquecimiento esterilizado y temperado a 42.5°C por 20 minutos, agitar vigorosamente.

-Colocamos en 8 frascos asépticos 90ml la preparación anterior

-Colocar el queso fresco sobre una superficie limpia utilizar como base papel aluminio.

-Realizar el cuarteamiento de la muestra, obteniendo un corte triangular desde el centro hacia el extremo

Pesar 50g de muestra

-Colocar la muestra una bolsa plásticas Ziploc, triturar hasta obtener una masa homogénea.

-Pesar 25 g de la masa y colocar en los medios estériles preparados.

-Incubar las muestras enriquecidas a 41,5° ± 1 °C de 18 a 24 horas.

Procedimiento de hidratación de placas de siembra

-Colocar las placas Placa 3M Petrifilm SALX sobre una superficie nivelada y plana.

-Con la pipeta perpendicular a la placa colocar 2 ml de agua destilada sobre le centro de la película.

-Dejar caer suavemente la película superior sobre el diluyente para evitar atrapar burbujas de aire.

-Presionar con el disco de placa para distribuir de forma equitativa el diluyente en toda el área

-Colocar la placa 3M Petrifilm SALX en una superficie plana durante 1 hora a temperatura ambiente (20–25 °C), protegida de la luz, para que se forme el gel.

Procedimiento inoculación e incubación de Salmonella

-Utilizar un asa estéril de 10 µL introducir en los frascos con las muestras ya preparadas.

-Realizar una sola siembra por estriado, desde la parte superior hasta la parte inferior de la placa para obtener colonias aisladas.

-Bajar la película superior para cerrar la placa muy despacio para evitar atrapar burbujas de aire en el área de inoculación.
-Incubar las placas 41,5° ± 1 °C durante 24 ± 2 horas en posición horizontal con el lado coloreado hacia arriba.

2.6. Determinación de *Listeria monocitogenes* por la técnica de Placas Petrifilm 3M método cualitativo.

Las Placas Petrifilm™ para el Monitoreo de Listeria en son un medio de cultivo listo para usarse que contiene agentes selectivos, nutrientes, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador cromogénico que facilita la detección de colonias.

Preparación de la muestra

-Para la identificación de la *Listeria monocitogenes* se realizó por la técnica de hisopo sobre la superficie del producto.
-Para realizar el hisopado se determinó un área de 50 cm^2 sobre la superficie o corteza del producto.
-Con un hisopo humedecido con 1 ml de agua destilada pasar sobre la superficie del producto en la medida establecida y regresar el hisopo al recipiente
-Adicionar asépticamente a la muestra 2 ml de agua peptonada mezclar vigorosamente la mezcla por el tiempo de 1 minuto.
-Dejar en reposo a temperatura ambiente a 20° a 30°C por una hora.

Procedimiento de inoculación e incubación.

-Colocar la placa petrifilm en una superficie plana y nivelada levantar la película superior.
-Con una pipeta de forma perpendicular a la palca petrifilm colocar 3ml de la muestra en el centro de la película inferior bajar la película trasparente suavemente para evitar burbujas aire.
-Dejar en reposo por 10 minutos para permitir que el gel de las placas se forme.
Incubar las placas caras arriba durante 28 horas ±2h a 35 °C.

En la tabla 9 se detalla el tiempo y temperatura que requiere cada microrganismo para la incubación y mostrar los resultados en las placas petrifilm.

Tabla 9. *Tiempo y Temperatura de Incubación por microorganismo*

Microrganismos	Tiempo	Temperatura	Método
Enterobacterias.	24 h ±2 h	35°C±1°C	AFNOR Validated Method 3M
Escherichia coli,	48 h ±2 h	35°C±1°C	Método Oficial AOAC 991.14
Coliformes	24 h ±2 h	35°C±1°C	Método Oficial AOAC 991.14
Staphylococcus aureus	24 h ±2 h	37°C±1°C	Método Oficial AOAC 2003.08
Listeria monocytogenes	28 h ±2 h	37°C±1°C	Método Oficial AOAC 030601
Salmonella	24 h ±2 h	41.5°C±1°C	Método Oficial AOAC 967.25

Elaborado por: Moreano, N (2021).

2.7. Evaluación la calidad microbiológica de las muestras analizadas.

La calidad microbiológica de los quesos frescos en estudio se determinó a través del número de bacterias presentes en las muestras del producto después del proceso de incubación.

Cada muestra fue inoculada en las placas petrifilm con 2 repeticiones por microorganismo, este tratamiento se realizó con la finalidad de descartar las placas con valores cero o placas que sean muy numerosas para contar (MNPC), las placas viables para el estudio fueron aquellas que presentaron de 30 y 300 colonias en la placa, este número es estadísticamente representativo.

El recuento de los microorganismos en las placas se basó también en las guías de interpretación de resultados obtenidos, donde muestran gráficamente las características de pruebas validas o invalidadas de las placas tratadas o algún defecto que puede presentarse en el proceso, por lo tanto, se señala el proceso de recuento de cada uno de los microorganismos.

2.8. Resultado viable de enterobacterias en placas Petrifilm

El indicador para finalizar prueba es cuando la placa colorea todas las colonias de rojo, estas están rodeadas de gas producido de forma natural por las mismas bacterias como demuestra el gráfico 5.

Gráfico 5. *Recuento de enterobacterias*

Fuente: Guía de interpretación de resultados Sistema 3M™ Petrifilm™, (2018).

2.9. Resultado viable de Escherichia coli y coliformes totales en placas Petrifilm

La mayoría de *E. Coli* producen beta -glucoronidasa, que reacciona como un indicador presente en la placa petrifilm y hace que la colonia sea de color azul , en algunos esas también se puede presentar rojo -azul, en lo que respecta a coliformes totales también son identificadas a la par y se presentan como colonia de color rojo como demuestra el grafico 6;si se obtiene estos resultados finaliza la prueba y procede al conteo de colonias en placa, las colonias de coliformes que crecen en la placa petrifilm produce el oscurecimiento del gel por el indicador del pH, el gas atrapado alrededor de las colonias rojas de coliformes confirma su presencia

Gráfico 6. *Recuento de E. Coli, Coliformes totales y tipos de burbujas asociadas a colonias*

Fuente: Guía de interpretación de resultados Sistema 3M™ Petrifilm™, (2018).

2.10. Resultado viable de Staphylococcus aureus en placas Petrifilm

El indicador para identificar *Staphylococcus aureus* es cuando se muestra en la placa colonias rojo-violeta se determinará que la prueba ha finalizado, las colonias pueden variar en tamaño sin embargo estas deben presentar el mismo color como detalla el grafico 7.

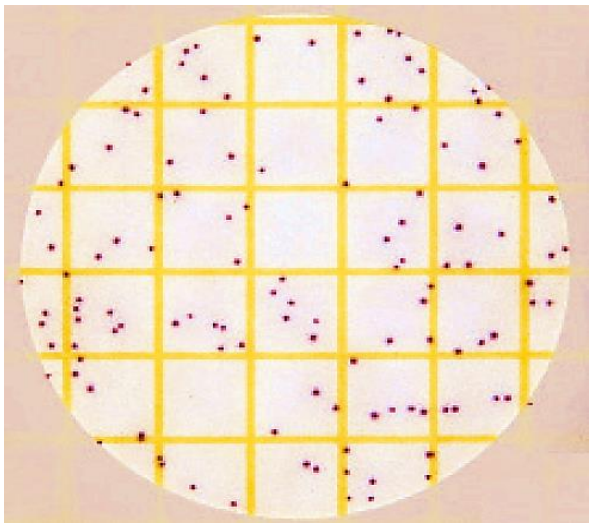

Gráfico 7. *Recuento Staphylococcus aureus.*

Fuente: Guía de interpretación de resultados Sistema 3M™ Petrifilm™, (2018).

2.11. Resultado viable de Salmonella en placas Petrifilm método cualitativo.

Si después del procedimiento no se identifican colonias presuntivas en la placa se procede a realizar la identificación con el disco de confirmación.

Someter a confirmación las placas con las colonias presuntivas de *Salmonella*, que a simple vista se tiene sospecha, insertar el disco de confirmación sobre el gel, evitar atrapar burbujas de aire y cerrar la placa.

Incubar la placa con el disco a 41,5° ± 1 °C de 4 a 5 horas

Se determinará como colonias presuntivas positivas cuando se muestra el resultado como la demostración del grafico 8, para el estudio se determinó como presencia o ausencia del microorganismo no se calculó ufc/g.

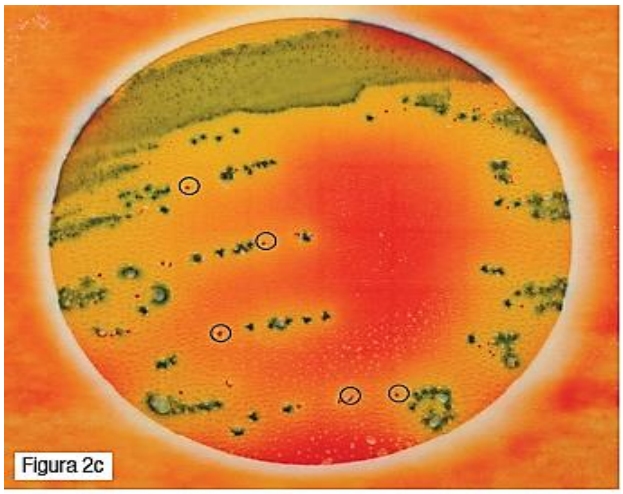

Gráfico 2. *Colonias presuntivas positivas en placa*

Fuente: Guía de interpretación de resultados Sistema 3M™ Petrifilm™, (2018).

2.12. Resultado viable de Listeria monocitogenes en placas Petrifilm método cualitativo.

La prueba cualitativa del microorganismo será viable o se determinará como positiva cuando en la placa se identifique colonias rojo – violeta intenso, para el estudio se determinó en las muestras como presencia o ausencia sin el cálculo de ufc/g como demuestra el gráfico 9.

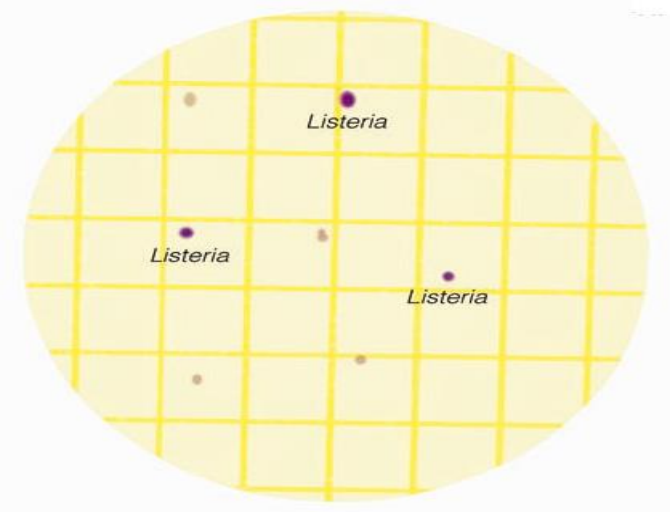

Gráfico 3. *Identificación cualitativa de Listeria monocitogenes en placa*

Fuente: Guía de interpretación de resultados Sistema 3M™ Petrifilm™, (2018).

2.13. Comparación de resultados obtenidos con los parámetros permisible indicadores de la calidad microbiológica del producto.

Una vez obtenidos los resultados de las placas viables de cada uno de los microorganismos se procede al cálculo de las unidades formadoras de colonias aplicando la siguiente fórmula.

$$\frac{ufc}{g} = \left(\frac{\#\, de\ colonias\ en\ placa}{ml\ muestra\ sembrada} \right) x\ Factor\ de\ dilución$$

Los resultados obtenidos de las muestras fueron ordenas por microorganismos y por las semanas de monitoreo; entre las muestras de un mismo local comercial no se encontró mayor variación se presentaron en un mismo rango.

Se procedió al cálculo de la media aritmética de los datos obtenidos de las muestras por local comercial y por microorganismo con la siguiente formula:

$$Media\ aritmética = \frac{\sum_1^N x_i}{N} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 \ldots . + x_n}{N}$$

Los resultados obtenidos se compararon con los límites permisibles (**m)** Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad y **(M)** Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad, según la norma NTE INEN 1528:2012 como detalla en la tabla 10.

Tabla 10. *Parámetros microbiológicos quesos frescos Norma Técnica NTE INEN 1528:2012.*

REQUISITO	**m**	**M**
Enterobacterias, UFC/g	$2x10^2$	10^3
Eschericha Coli, UFC/g	< 10	10
Staphylococcus aureus UFC/g	10	10^2
Listeria monocytogenes /25 g	Ausencia	-
Salmonella en 25g	Ausencia	-

Elaborado por: Moreano, N (2021).

Los resultados del análisis microbiológico y la comparación de los parámetros permisibles que establece la norma en referencia para determinar la inocuidad y calidad del producto, los mismos que se encuentran detallados en el Capítulo III de la investigación

CAPÍTULO III

3.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Para realizar la evaluación de la calidad microbiológica del queso fresco de producción artesanal expendidos en el mercado cerrado Latacunga, se realizó el análisis de 160 muestras correspondientes a 8 locales de comercialización, los mismo que fueron objeto del análisis microbiológico para la comprobación de los parámetros permisibles del nivel de buena calidad **(m)** y los parámetros permisibles de nivel aceptable de calidad **(M)**, bajo la normativa NTE INEN 1528:2012; es necesario iniciar con la conceptualización de criterio microbiológico que es fundamental para los alimentos, por que define la aceptabilidad del producto basándose en la presencia o ausencia de microorganismos, los mismos que pueden acusar efectos en la salud de los consumidores dependiendo del grado de contaminación del producto. (ANMAT, 2018). Este criterio se vuelve bastante importante cuando los alimentos son de consumo directo como es el queso fresco, eliminando la posibilidad de ser sometido algún tratamiento térmico que pueda disminuir la carga microbiológica en el caso de contaminación.

La evaluación de la inocuidad del queso fresco y la aceptabilidad para el consumo humano a través del cumplimiento del criterio microbiológico del producto demuestra la eficacia de la aplicación de buenas prácticas de manufactura, buenas prácticas de higiene, pero debe considerar la alta sensibilidad al crecimiento microbiano en el queso fresco durante la manufactura, almacenamiento, distribución y comercialización.

En la norma NTE INEN 1528:2012 no abarca como requisitos los parámetros físicos químicos sin embargo se toma en consideración los criterios de (Rodríguez, 2002) , en donde indica que el queso fresco se caracteriza por ser un producto poco

fermentado ligeramente acido con un (pH de 5.3), la actividad del agua es de (aw 0.9), con un bajo porcentaje de sal menor al (3 %). Así mismo, Isquie (2014), señala que valores altos de acidez conducen al aumento de sinéresis provocando que el producto terminado pierda la mayor cantidad de agua. Menéndez (2018),establece que la actividad del agua en alimentos frescos se mantiene en un rango de 0.96-0.99 por lo que favorece al desarrollo de microorganismos, disminuyendo la vida útil del producto y otros se desarrollan al contacto con la contaminación ambiental, la elaboración de queso fresco algunas veces es procesado sin previa pasteurización de la leche, a esto se suma la ruptura de la cadena de frio en el almacenamiento, transporte y comercialización del producto en mercados y tiendas disponibles al consumidor.

El queso fresco es considerado un producto de consumo directo, por lo tanto, debe cumplir con limites microbiológicos que separa la calidad aceptable de la rechazable según la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 1528:2012, establece microorganismos indicadores como *Escherichia coli*, coliformes fecales, *Salmonella* presentes en el queso fresco cuando existe contaminación fecal o posible presencia de patógenos, la presencia de *Staphylococcus aureus* demuestra la contaminación por manipulación humana; la presencia de *Enterobacterias*, *Listeria* cuando existe contaminación post tratamientos térmicos; estos indicadores deben ser considerados antes, durante y después del producto final con la implementación de medidas de control validadas a través de toda la cadena para minimizar la contaminación, mejorar la inocuidad, aplicar practicas higiénicas en la comercialización. Según ANMAT (2018), establece estos indicadores deben ser considerados tanto en el uso previsto como en el uso real del producto final por lo que debe realizarse revisiones periódicas de los indicadores microbiológicos de manera frecuente para asegurar la inocuidad bajo las condiciones y practicas actuales.

3.2. Resultado y discusión del análisis microbiológico de *Enterobacterias.*

Con respecto al análisis microbiológico de Enterobacterias realizado de queso fresco comercializados en el mercado cerrado Latacunga según el método AFNOR Validated Method 3M se obtuvo los siguientes resultados detallados en la tabla 11.

Tabla 11. *Promedio de ufc/g de Enterobacterias.*

Local de comercialización	Enterobacterias ufc/g
	Media
LC 1	$2{,}9x10^4$
LC 2	$2{,}3x10^4$
LC 3	$3{,}0x10^4$
LC 4	$2{,}6x10^4$
LC 5	$1{,}0x10^5$
LC 6	$1{,}2x10^5$
LC 7	$1{,}9x10^4$
LC 8	$4{,}7x10^4$

Elaborado por: Moreano, N (2021).

Del promedio de las muestras analizadas por cada uno de los locales de comercialización de queso fresco se obtiene las ufc/g de Enterobacterias que superan los límites permisibles del nivel de buena calidad (LMP) $2x10^2$ ufc/g como el nivel de aceptable de calidad de (LMP) 10^3 ufc/g establecidos en los requisitos microbiológicos en la norma NTE INEN 1528:2012 obteniendo valores entre 10^4 a 10^5 ufc/g estos datos se representan en el gráfico 10 demuestra que los valores obtenidos en los promedios de las muestras analizadas superan los límites permisibles y que las muestras del local de comercialización LC5 Y LC6 tiene ufc/g más elevadas a comparación del resto de muestras que se mantienen en el rango de ufc/g identificadas en el análisis.

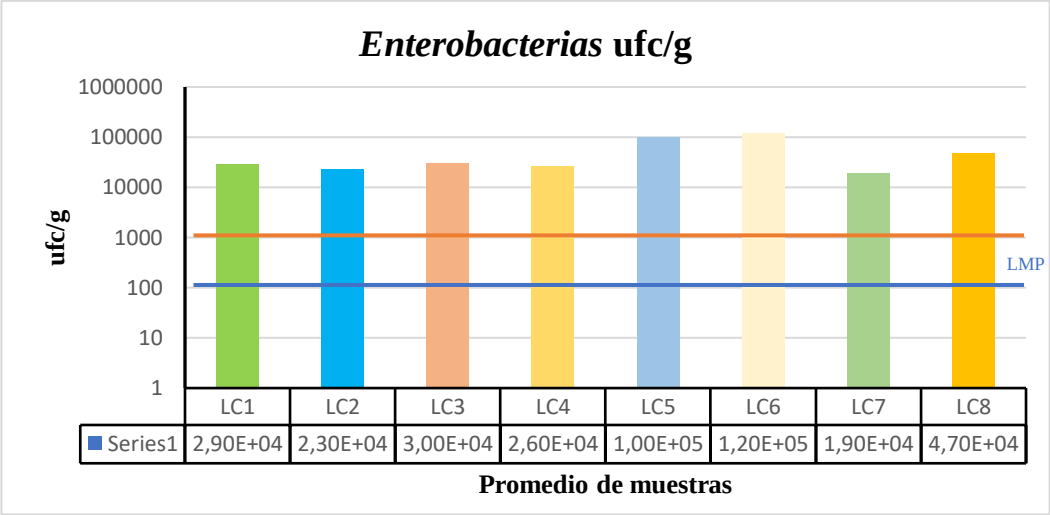

Gráfico 4. *Promedio de ufc/g de Enterobacterias.*

Elaborado por: Moreano, N (2021).

Para expresar en porcentaje el promedio de las muestras de queso fresco del análisis microbiológico realizado de Enterobacterias en relación con los valores indicados en la norma el 100 % de las muestras no cumplen con el requisito microbiológico así se demuestra en el gráfico 9.

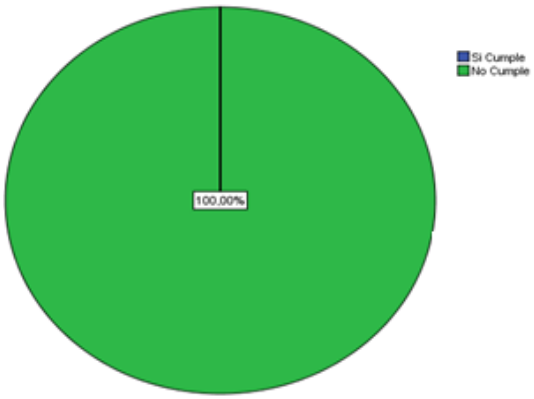

Gráfico 10. *Porcentaje de muestras que cumplen los límites permisibles según NTE INEN 1528:2012 Enterobacterias*

Elaborado por: Moreano, N (2021).

Los resultados obtenidos con las muestras recolectadas del mercado cerrado Latacunga se sustenta con la investigación realizada por (Baque et al.,2019), en la evaluación de la calidad microbiológica de quesos frescos comercializados en un mercado de la provincia de Guayas obteniendo como resultado el recuento

microbiológico de Enterobacterias valores de $2,6x10^6$ ufc/g de las muestras recolectadas en los puntos de comercialización, los resultados se relacionan a que influye mucho la temperatura a la que está expuesto el producto , debido a que los comerciantes exponen el queso fresco a temperatura ambiente y en muchos caso en conjunto con otros productos como cárnicos, verduras; otro factor que influye es el tiempo trascurrido del producto final a los puntos de comercialización que es de aproximadamente 72 horas, datos y condiciones similares se obtuvo en el recuento en el mercado cerrado Latacunga detallados en la tabla 11 con valores entre $3,0x10^3$ ufc/g a $4,7x10^4$ ufc/g, Según In Food Quality (2010), considera que el cambio o variaciones de temperaturas que pueden sufrir los productos lácteos durante el proceso de transporte y comercialización afecta el metabolismo y enzimas de los microrganismos por lo que genera condiciones para el crecimiento de bacterias y deterioro del producto; de igual manera en otra investigación realizada por Filian et al.,(2020) analizaron 35 muestras de queso fresco de 250 g en 3 mercados de la ciudad de Babahoyo determinan que los valores obtenidos de los recuentos microbiológicos según la norma NTE INEN 1528-2012 están fuera de los límites permisibles por lo que se concluye que el expendio del producto es inadecuado y presentan una amenaza para la seguridad alimentaria y la salud pública de los consumidores.

3.3. Resultado y discusión del análisis microbiológico de Coliformes Totales

La prueba de coliformes totales tiene importancia relevante como indicador de contaminación se encuentra ampliamente distribuido en el agua y los alimentos la prueba positiva de coliformes indica un 90% de probabilidad que el coliforme aislado sea *Escherichia coli*, por lo tanto determina si los alimentos han sido manipulados durante el proceso, almacenamiento, transporte, distribución y comercialización con normas de higiene deficiente o materia prima contaminada, de las muestras analizadas, según el Método Oficial AOAC 991.14 se identifica coliformes por su capacidad de crecer en medios selectivos y específicos en las placas petrifilm los coliformes productores de ácido se mostraron como colonias rojas con o sin gas los resultados se detallan en la tabla 12.

Tabla 12. *Promedio de ufc/g de Coliformes totales.*

Local de comercialización	Coliformes Totales ufc/g
	Media
LC 1	$5{,}1x10^4$
LC 2	$1{,}7x10^4$
LC 3	<10
LC 4	$1{,}4x10^4$
LC 5	$5{,}0x10^4$
LC 6	$1{,}1x10^5$
LC 7	$7{,}4x10^4$
LC 8	<10

Elaborado por: Moreano, N (2021).

Del promedio de las muestras analizadas por cada uno de los locales de comercialización de queso fresco se obtiene el crecimiento las ufc/g de Coliformes totales valores mínimos de $1{,}7x10^4$ ufc/g a valores máximos de $1{,}1x10^5$ ufc/g; según Bayona (2019), el queso es un producto que contiene lactosa, por lo tanto, es el medio propicio para el desarrollo de estos microorganismos. Una vez comparados los resultados solamente en las muestras del LC3 cumplen con el nivel aceptable de buena calidad <10 ufc/g.

Según los parámetros sugeridos por la Comisión Internacional de Especificaciones para Alimentos ICMSF establece que la presencia de coliformes totales en queso fresco es <10 ufc/g.

Según Larrea (2016), determina que los coliformes se eliminan con procesos térmicos, pero sí están presentes en el producto terminado indica procesos deficientes, temperaturas o saneamiento inadecuados, los resultados obtenidos se muestran se muestran en el gráfico 12.

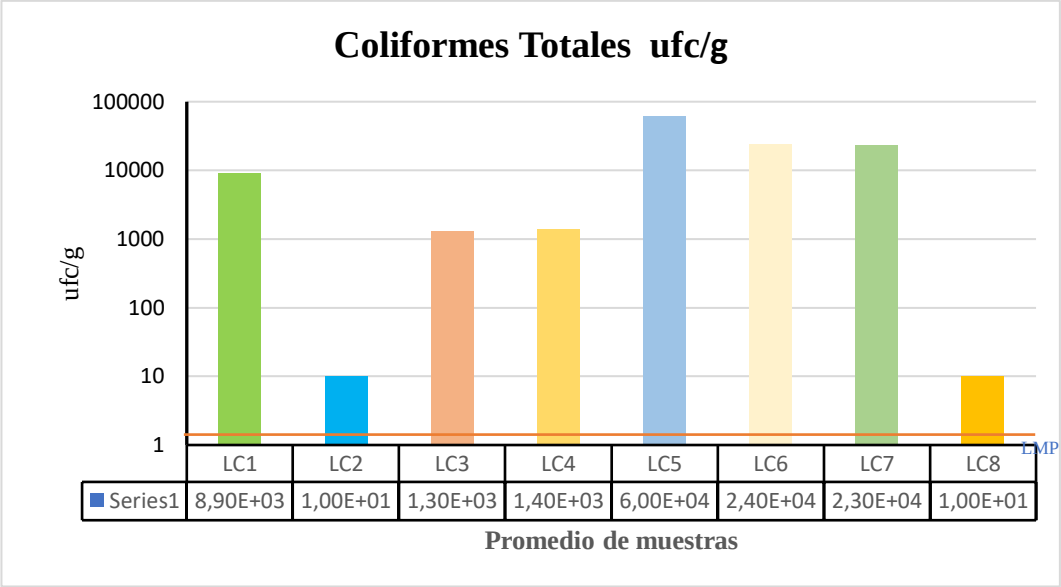

Gráfico 5. *Promedio de ufc/g de Coliformes Totales*

Elaborado por: Moreano, N (2021).

3.4. Resultado y discusión del análisis microbiológico de *Escherichia coli*.

Según Castellanos (2019), determina que aproximadamente el 97% de las bacterias producen beta-glucuronidasa lo que hace que reaccionen formando colonias de color azul y la producción de gas confirmando la presencia de E. Coli,los resultados obtenidos se detalla en la tabla 13.

Tabla 13. *Promedio de ufc/g de Escherichia coli.*

Local de comercialización	***Escherichia coli* ufc/g**
	Media
LC 1	$8,9x10^3$
LC 2	<10
LC 3	$1,3x10^3$
LC 4	$1,4x10^3$
LC 5	$6,0x10^4$
LC 6	$2,4x10^4$
LC 7	$2,3x10^4$
LC 8	<10

Elaborado por: Moreano, N (2021).

En las muestras analizadas se obtiene que 2 puntos de comercialización cumplen con el índice máximo permisible del nivel de buena calidad obteniendo valores <10 ufc/g, de *Escherichia coli*; las muestras pertenecen a los locales (LC2 – LC8)

Las demás muestras superan los límites permisibles del nivel de buena calidad (LMP) <10 ufc/g como el nivel aceptable de calidad de (LMP) 10 ufc/g establecidos en los requisitos microbiológicos en la norma NTE INEN 1528:2012 obteniendo valores entre 10^3 a 10^4 ufc/g estos datos se representan en el grafico 13.

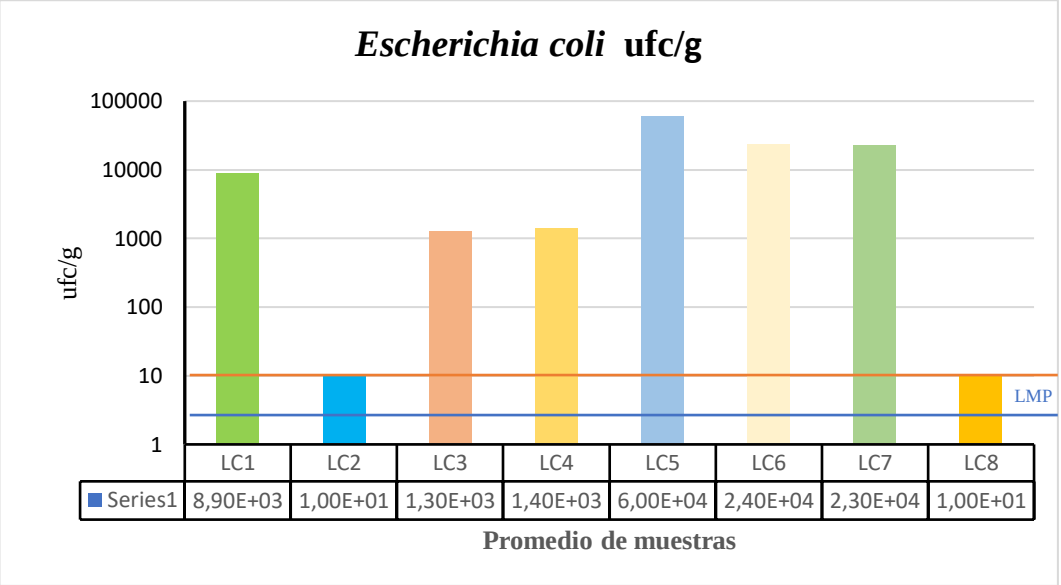

Gráfico 6. *Promedio de ufc/g de Escherichia coli.*

Elaborado por: Moreano, N (2021).

Para expresar en porcentaje de las muestras de *Escherichia coli* en relación con los valores indicados, el 25 % cumple con el índice máximo del nivel de buena calidad y el 75 % no cumple con los parámetros permisibles con respecto al microorganismo en estudio así se demuestra en el gráfico 14.

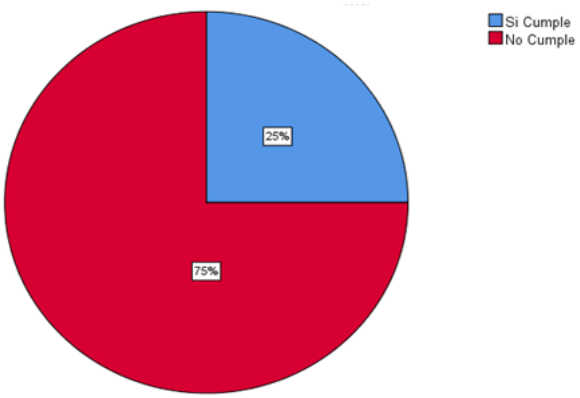

Gráfico 7. *Porcentaje de muestras que cumplen los límites permisibles según NTE INEN 1528:2012 Escherichia coli*

Elaborado por: Moreano, N (2021).

Los resultados detallados en la tabla 13 se sustentan con otras investigaciones como Magallanes (2018), realiza una investigación del muestreo de leche de vaca para elaboración de quesos en tres fincas agropecuarias en la ciudad de Guayaquil en donde identifica concentraciones altas de coliformes totales y *Escherichia coli* con valores de: finca a) $1{,}1x10^{6}$ ufc/ml , finca b) $2{,}2x10^{5}$ ufc/ml, finca c) $6x10^{4}$/ml el investigador determina que las concentraciones altas de los microorganismos en la materia prima se debe a la contaminación de la leche con las heces fecales del animal, ordeño antihigiénico, contacto con establos contaminados , contacto con agua contaminada en el lavado de utensilios. Por otra parte, en el estudio de Rodríguez et al., (2015) encuentra la presencia de coliformes totales de $637x10^{5}$ ufc/g y Escherichia coli de 42 $x10^{5}$ufc/g en quesos frescos expendidos en mercados populares, en lo que respecta a los resultados determinados en el mercado cerrado Latacunga es de $1{,}4\ x10^{4}$ufc/g – $7{,}4x10^{5}$ ufc/g y Escherichia coli de $1{,}3x10^{3}$ufc/g-$6{,}0x10^{4}$ufc/g que en comparación con valores de las investigaciones en referencias se puede determinar que la contaminación de quesos frescos en el mercado en cuestión es de grado medio, pero no cumplen con la normativa vigente. Según la FAO (2017), en experimentos realizados establece que existe una estrecha relación del microorganismo y la temperatura, los quesos frescos expendidos en los mercados normalmente están expuestos a temperaturas entre 20°C a 26°C

influyendo al crecimiento de las bacterias, el producto llega alterado desde el transporte por la deficiencia en sistemas de refrigeración.

Esto ocurre en la mayoría de los casos la comercialización al por menor ,el producto llega a los puntos de comercialización en valdes, canastillas de plástico, cajones de madera, bandejas, en muchas ocasiones mezclados con otros productos; en la norma NTE INEN 1528:2012 establece que la temperatura óptima para el almacenamiento de queso fresco es de 4 °C sin embargo el comerciante al ignorar las normas básicas de conservación e higiene aporta para que el alimento se vuelva susceptible al crecimiento de bacterias y su rápido deterioro.

3.5. Resultado y discusión del análisis microbiológico de *Staphylococcus aureus.*

Con respecto al análisis microbiológico de *Staphylococcus aureus* en quesos frescos realizado según el Método Oficial AOAC 2003.08 demuestran los siguientes resultados representados en la tabla 14.

Tabla 14. *Promedio de ufc/g de Staphylococcus aureus.*

Local de comercialización	*Staphylococcus aureus* ufc/g
	Media
LC 1	$2,3x10^5$
LC 2	$3,0x10^4$
LC 3	$5,9x10^4$
LC 4	$3,1x10^4$
LC 5	$1,5x10^5$
LC 6	$3,8x10^4$
LC 7	$2,0x10^5$
LC 8	$1,9x10^5$

Elaborado por: Moreano, N (2021).

Del promedio de las muestras analizadas se obtiene las ufc/g de *Staphylococcus aureus* superan los límites permisibles del nivel de buena calidad (LMP) 10 ufc/g como el nivel de aceptable de calidad de (LMP) 10^2 ufc/g establecidos en los requisitos microbiológicos en la norma NTE INEN 1528:2012 obteniendo valores entre 10^4 a 10^5 ufc/g estos datos se representan en el grafico 15.

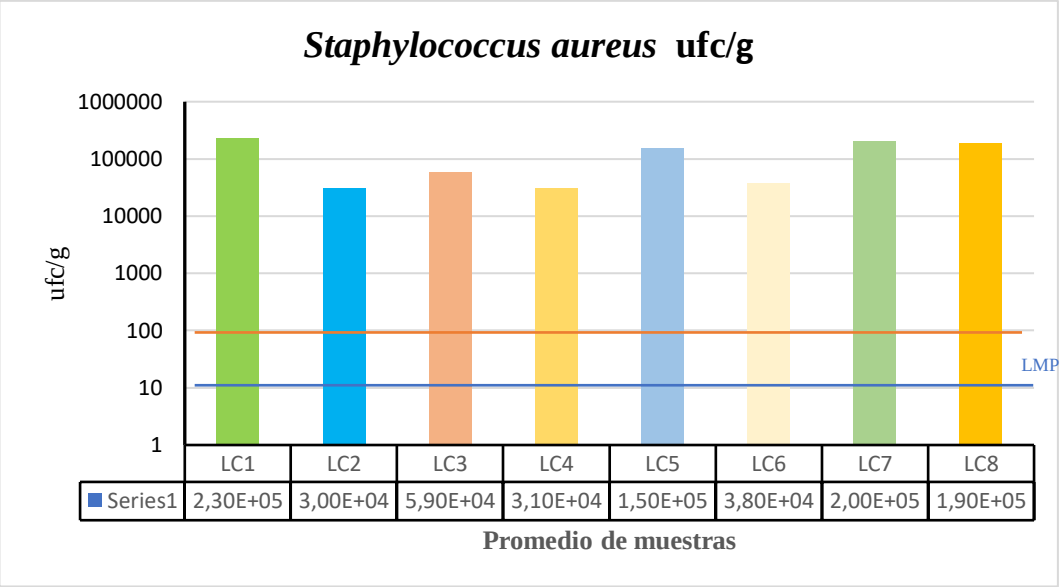

Gráfico 8. *Promedio de ufc/g de Staphylococcus aureus.*

Elaborado por: Moreano, N (2021).

Para expresar en porcentaje el promedio de las muestras del análisis de *Staphylococcus aureus*, en relación con los valores indicados en la norma el 100 % no cumple con el índice máximo del nivel de buena calidad tampoco cumple con los parámetros permisibles aceptables así se demuestra en el grafico 16.

.

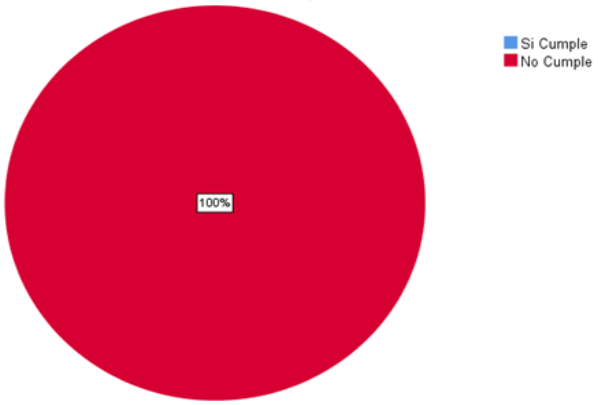

Gráfico 9. ***Porcentaje*** *de muestras que cumplen los límites permisibles según NTE INEN 1528:2012 Staphylococcus aureus*

Elaborado por: Moreano, N (2021).

Los resultados obtenidos en la tabla 14 determina que los quesos frescos obtenidos del mercado cerrado Latacunga están contaminados con Staphylococcus aureus encontrando valores entre $3{,}0x10^{4}$ufc/g-$2{,}3x10^{5}$ufc/g, estos resultados superan los

límites permisibles establecidos en la normativa vigente estos datos se convierten en una seria preocupación; Machado&Pardo (2008), asevera que el *Staphylococcus aureus* es capaz de producir una toxina altamente termoestable, que puede causar severas intoxicaciones en el hombre, Zanjeda & Avalos (2014), manifiesta que la presencia de la bacteria en alimentos es peligrosa y más aún en alimentos de consumo directo por que se requiere de 1µg (microgramo) de toxina para causar intoxicación es decir 106 ufc/g; de igual manera la FDA establece que la cantidad de *Staphylococcus aureus* en el que se encuentre 105 ufc/g aproximadamente representa 1nm (nanómetro) de toxina estafilocóccica por gramo de alimento es suficiente para causar intoxicaciones (Reginald, 2019).

En la investigación realizada por Orellana (2020), sobre la detección de *Staphylococcus aureus* en queso fresco comercializado en el mercado municipal de Sauces, Guayaquil detalla las causas de la contaminación del producto, como inadecuada manipulación del producto por los comerciantes, deficiente desinfección y limpieza de los puestos de comercialización, los mercados al ser centros de aglomeración el suelo, paredes debe ser permanentemente desinfectados con hipoclorito de sodio y agua a presión , sin embargo esta práctica no es aplicada, los mandiles que utilizan los comerciantes no están limpios y son utilizados para el secado de manos y guardar el dinero de la venta del producto, utilizan una franela o un pedazo de tela para limpiar las superficies del mesón y vitrinas, no existe control de las autoridades municipales y tampoco de las autoridades sanitarias, los comerciantes no están capacitados sobre buenas prácticas de higiene por lo que se concierta con el autor, también se evidencia las misma causas en el mercado cerrado de Latacunga.

3.6. Resultado y discusión del análisis microbiológico cualitativo de *Listeria monocitogenes.*

El queso fresco es un producto lácteo que presenta condiciones favorables para el crecimiento de *Listeria*, algunas veces es elaborado a partir de leche cruda sin pasteurización, normas de higiene inadecuadas y el hecho de la venta libre de estos productos en los mercados o tiendas sin estar sujetos a controles de

almacenamiento, distribución y comercialización se convierten en productos inseguros y de fácil contaminación.

Es importante el estudio de este microorganismo debido a que resiste diversas condiciones ambientales como pH bajo, altas concentraciones de sal, sobrevive a temperaturas de refrigeración (2-4°C). (Espinoza, 2004).

Realizado el análisis microbiológico de las muestras obtenidas por el método oficial AOAC 030601 se pudo determinar los siguientes resultados representados en la tabla 14.

Tabla 15. *Resultado cualitativo del análisis microbiológico de Listeria monocitogenes*

Local de comercialización	Listeria monocitogenes ufc/g	NTE INEN 1528-12
	Media	
LC 1	<10	**Presencia**
LC 2	$1x10^3$	**Presencia**
LC 3	$7,2x10^2$	**Presencia**
LC 4	0	**Ausencia**
LC 5	0	**Ausencia**
LC 6	0	**Ausencia**
LC 7	0	**Ausencia**
LC 8	$5x10^2$	**Presencia**

Elaborado por: Moreano, N (2021).

Para expresar el porcentaje de las muestras del análisis realizado de *Listeria monocitogenes.* en relación con los valores indicados en la norma el 50 % de las muestras cumple con el índice máximo permisible del nivel de buena calidad con resultados negativos a la presencia del microorganismo, el 50 % de las muestras restantes no cumplen con el índice máximo permisible con resultados positivos a la presencia del microorganismo en el producto, los resultados se detallan en el gráfico 16.

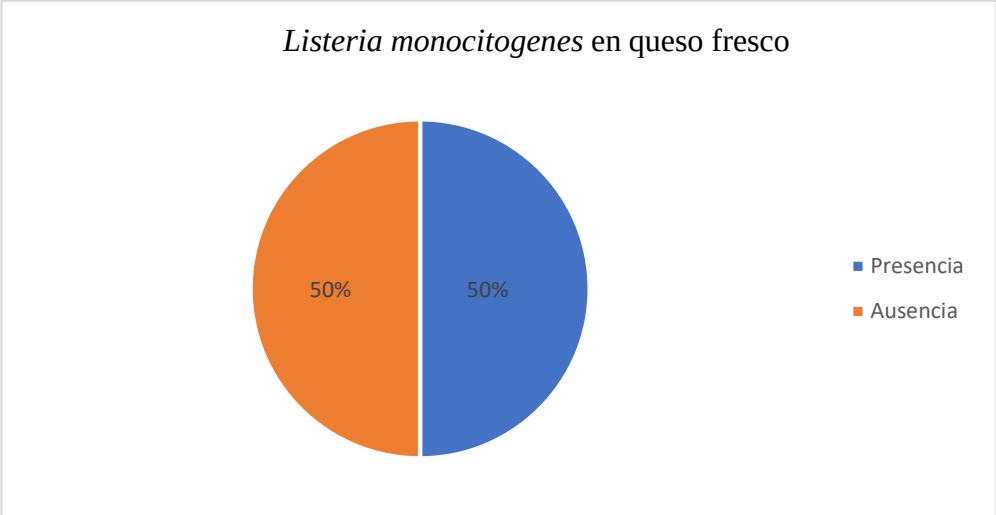

Gráfico 10. *Porcentaje de muestras que cumplen los límites permisibles según NTE INEN 1528:2012 Listeria monocitogenes*

Elaborado por: Moreano, N (2021).

La presencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos causa listeriosis, una enfermedad de baja morbilidad, pero con una elevada tasa de mortalidad, la bacteria ha sido identificada en productos listos para consumir dado que se desarrolla en condiciones de almacenamiento o refrigeración (Córdova et al.,2020).

El crecimiento de *Listeria monocytogenes* en los alimentos depende de las características intrínsecas del alimento (pH, actividad del agua) y características extrínsecas (temperatura de almacenamiento, humedad relativa) y las técnicas de procesamiento utilizadas en la elaboración (Garcia, 2014); Según la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas de alimentos (ICMSF) establece que la temperatura para el desarrollo es en el rango de -0.4 °C- 45°C, el pH oscila entre 4.4 -9.4 , la actividad de agua aw 0.92

Los resultado detallados en la tabla 15 determina que solo el 50% de las muestras cumplen con el índice máximo permisible del nivel de buena calidad que es la ausencia de *Listeria monocytogenes* y el otro 50 % se determina la presencia de la bacteria según la norma NTE INEN 1528:2012; los resultados obtenidos coinciden con la investigación de realizada por (Garcia, 2014), en donde realiza la determinación de *Listeria monocytogenes* en queso fresco expendido al granel en los mercados de Cuenca concluye que la presencia de la bacteria se debe a la

exposición del producto a temperaturas entre 20°C a 23 °C, esto hace que el pH se modifique entre el 5.9 y 6.2 alterando la actividad del agua entre 0.95-0.99, el cloruro de sodio entre el 0.5 a 0.7%, todas estas variable son condiciones favorables para el desarrollo de la bacteria sin dejar de lado la contaminación ambiental presente en los lugares de comercialización.

3.7. Resultado y discusión del análisis microbiológico cualitativo de *Salmonella.*

El análisis de las muestras tomadas son pruebas cualitativas para *Salmonella* de detección rápida y confirmación bioquímica aplicando el Método Oficial AOAC 967.25

Para la interpretación de especies presuntivas positivas de *Salmonella* se determinó presencia o ausencia del microorganismo en las placas petrifilm según las características del color de la colonia y el metabolismo de la colonia características que se detallan en la tabla 16.

Tabla 16. *Resultado cualitativo del análisis microbiológico de Salmonella*

			CARACTERISTICAS DE COLONIAS					
Locales Comercialización	**Muestras analizadas**	**Resultados en placas petrifilm visibles**	**Color de la colonia**			**Metabolismo de la colonia**		**Resultado**
			Rojo	**Rojo Oscuro**	**Marrón**	**Zona amarilla**	**Burbuja de gas**	
LC1	20	15	-	x	-	-	x	***Presuntiva +***
LC2	20	12	x	-	-	x	-	***Presuntiva +***
LC3	20	17	x	-	-	x	-	***Presuntiva +***
LC4	20	16	x	-	-	x	x	***Presuntiva +***
LC5	20	14	x	-	-	x	x	***Presuntiva +***
LC6	20	13	-	-	x	x	x	***Presuntiva +***
LC7	20	14	x	-	-	x	x	***Presuntiva +***
LC8	20	15	-	x	-	-	x	***Presuntiva +***

Elaborado por: Moreano, N (2021).

Estos resultados demuestran la presencia de Salmonella los resultados demuestran que no cumple con el requisito establecido en la norma, por lo tanto, el 100% de las muestras están contaminadas así se expresa en el grafico 17.

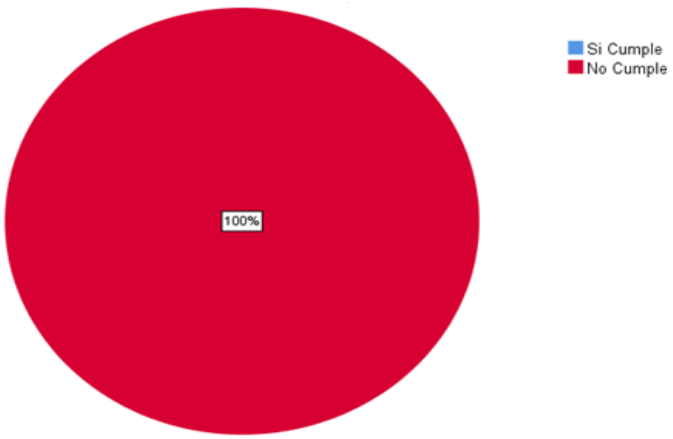

Gráfico 11. *Porcentaje de muestras que cumplen los límites permisibles según NTE INEN 1528:2012 Salmonella.*

Elaborado por: Moreano, N (2021).

Los resultados obtenidos en laboratorio detallados en la tabla 16 determina que el 100 % de las muestras de queso fresco están contaminadas con *Salmonella* estos resultados son causa probable de una contaminación post -pasteurización, también es viable que la contaminación sea con ganado enfermo que padece de salmonelosis, tuberculosis o brucelosis que fácilmente puede ser trasferible en la leche como materia prima. (Carrión, 2017).

Según Goope (2000), determina que la trasmisión de *Salmonella* a los alimentos puede ser por contaminación cruzada entre alimentos y por la manipulación de las personas que sean potadoras asintomáticas, el deficiente lavado de manos o el contacto con heces fecales del hombre o animales contaminados.

Colorado (2017), realiza la investigación de caracterización de serotipos patógenos del género *Salmonella* en quesos frescos; identifica que la estacionalidad de la bacteria presenta un predominio en los meses de verano, motivado por el aumento en la temperatura ambiental que facilita la proliferación y existe mayor incidencia en casos de fiebre entérica, salmonelosis y tifoidea. Se necesita una dosis infecciosa mínima de 10^3 y 10^5 ufc/g el periodo de incubación oscila entre 6 y 48 horas después inicia el cuadro clínico en el ser humano (Carrada, 2017).

Los resultados de la investigación demuestran que en las actividades de comercialización en el mercado existe contaminación de los productos por lo tanto representa una seria preocupación para la salud de los consumidores esto influye a que se deben mejorar las actividades comerciales que se desarrollan de forma empírica, muchos procesos no cuentan con manejo técnico, conviene mucho determinar características técnicas de infraestructura sin dejar de lado la parte tecnológica para mejorar el bienestar de comerciantes, consumidores y la población en general a pesar que la norma técnica NTE INEN 2687:2013 que establece los requisitos para mercados saludables se encuentra vigente en todo el país, esta normativa no se encuentra aplicada correctamente; esto demanda del compromiso de varios involucrados como autoridades, productores, comerciantes y consumidores.

3.8. Evaluación de expertos

Se selecciono como experto a un técnico especialista que se desempeña en Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) entidad reguladora que controla la calidad de productos y servicios de uso de consumo humano, la entidad está adscrita al Ministerio de Salud Pública (MSP) vigila estrictamente las condiciones higiénico-sanitarias de los productos en las plantas de producción e industrias.

Al experto se dio a conocer la contextualización del estudio realizado, se informó sobre la recolección de muestras de quesos frescos en el mercado cerrado de Latacunga, se realizó pruebas de laboratorio mediante la metodología del sistema de las placas petrifilm y los resultados obtenidos fueron comparados y valorados con la norma NTE INEN1528:2012, con ello se determinó si cumplen o no con los parámetros mínimos y máximos de inocuidad y calidad.

El aval del experto se encuentra en el segmento de Anexos

3.10. Evaluación de usuarios

Para la validación de usuarios se aplicó a un técnico de control de calidad de una industria de lácteos, antes de iniciar se dio a conocer el proceso de investigación y

los resultados obtenidos en la evaluación de la calidad microbiológica de quesos frescos en el mercado cerrado Latacunga y el cotejo de los resultados con la normativa vigente.

El aval del usuario se encuentra en el segmento de Anexos.

CONCLUSIONES

-El mercado cerrado Latacunga es un centro de abasto de productos de primera necesidad abarca cerca de 500 comerciantes de los cuales se pudo identificar 8 puestos de comercialización de quesos frescos los mismos que según la observación directa del desarrollo de las actividades de comercialización se determinó que no aplican medidas de higiene y manipulación del producto en estudio.

-El recuento microbiológico de *E. Coli* se demuestra que el 25 % de las muestras se encuentran dentro del nivel de buena calidad y nivel aceptable, lo que determina que cumple con los requisitos establecidos en la Norma NTE INEN 1528:2012 sin embargo el 75 % de las muestras supera la carga microbiana promedio y se encuentran fuera de los parámetros por lo que demuestra una elevada contaminación fecal presente desde la materia prima por ordeño antihigiénico o establos contaminados.

-Los resultados obtenidos en el análisis de *Enterobacterias,* superan los parámetros permisibles obteniendo una carga microbiana de $1,2x10^6$ en razón que la exposición del producto a temperatura ambiente altera el metabolismo y las enzimas favoreciendo el desarrollo de los microorganismos que contribuye al deterioro de la vida útil y calidad del producto.

La presencia de *Staphylococcus aureus* en el queso fresco es de suma importancia por lo que demuestra que las condiciones de manipulación e higiene en las actividades de comercialización son deficientes, es importante el uso de los utensilios de limpieza y la salud del manipular ya que son las principales vías de trasmisión del microorganismo.

-Los puestos de comercialización de los productos lácteos se encuentra en un lugar no estratégico donde esta expuesto a la contaminación cruzada por el contacto con otros productos alimenticios generando condiciones favorables para el desarrollo de Salmonella, a esta situación también contribuye la falta de infraestructura técnica, falta de ventilación y deficiencia del manejo en el almacenamiento y conservación de los productos.

-La proliferación de *Listeria Monocitogenes*, se produce por la deficiencia en el manejo de temperaturas en el almacenamiento, conservación del producto por lo que las pruebas cualitativas demuestran la presencia del microorganismo en el 50 % de las muestras, este resultado también es la consecuencia del contacto con superficies contaminadas en las cámaras de frio o frigoríficos, deficiencia de desinfección de superficies, deficiencia de la cadena de frio en el transporte y comercialización.

-La inocuidad y calidad de los quesos frescos depende mucho cumplir con las condiciones básicas de higiene, métodos, tratamientos que permitan cumplir estas condiciones en todos los procesos hasta llegar al consumidor final, mantener la cadena de frio antes y durante las actividades de comercialización

RECOMENDACIONES

-Los resultados obtenidos en la investigación son de interés público por lo tanto debe ser un proceso participativo desde el productor hasta las autoridades competentes las mismas que deben establecer canales de comunicación para buscar soluciones técnicas ante el problema de contaminación alimentaria mitigar las enfermedades trasmitidas por los alimentos y garantizar el cumplimiento de las normativas vigentes en el país para seguridad del consumidor.

- Se recomienda tomar como base o diagnostico los resultados presentados en esta investigación para el desarrollo de otros temas como planes de inocuidad que efectúen cambios en las actividades cotidianas de comercialización, transporte y almacenamiento del producto y la identificación de nuevos riesgos asociados con los productos alimenticios, elaborar manuales para manipuladores de alimentos para disminuir la contaminación.

- Desarrollar planes de capacitación, charlas informativas que permita la aplicación de la teoría planteada con la practica en las actividades de comercialización, aplicar la retroalimentación, acompañamiento técnico y monitoreo permanente para detectar las deficiencias y fortalecerlas.

-Considerando que el mercado cerrado Latacunga es un centro de abasto de productos de primera necesidad es necesario que oferte productos inocuos y de excelente calidad por lo tanto se esencial el cumplimiento de la norma INEN 2687:2013 en la que establece los requisitos y practicas que deben cumplir los mercados para la comercialización aptos para el consumo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Argenti, O. (2000). La comercialización de alimentos en las ciudades, un reto para las autoridades municipales. roma: disponible en www.fao.org/DOCREP/003/X8296S/X8296S00.htm.

Awuah, E. (1997). Mobilizing for change: a case study of market trader activism in Ghana (Vol. Vol.31). African.

Benassi, F. (2013). Evaluación de Listeria monocytogenes y calidad microbiológica en quesos frescos de producción artesanal. Tecnología Láctea Latinoamericana - Inocuidad (79).

Guevara, M. (2016). Manual para reconocimiento y certificación de mercados saludables. Mercado saludables Ecuador, p. 1-41.

Gutiérrez, G. (2009). Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. (C. Rosell, Ed.) Roma.

Inlac. (2018). Las propiedades nutricionales del queso. Es Queso, pp2-6.

Instituto de salud Carlos III, España. (2018). Enfermedades de transmisión alimentaria. España.

Kopper, G. &. (2009). Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. Roma: Cadmo Rossell.

Medellin, S. d. (2018). Enfermedades transmitidas por alimentos o agua. Boletín Epidemiológico, págs. pág. 1-10.

MSP, B. (2013). Inocuidad de Alimentos. Colombia: Dirección de Promoción y Prevención de la salud Nutricional Alimentos y bebidas.

MSP, R. (2019). Enfermedades transmitidas por agua y alimentos en Ecuador. Quito.

Núñez, M. (2010). Guía de elaboración de quesos artesanales. Tucumán, pp 1-100.

Panorama de la seguridad alimentaria y nutricional en América Latina y el Caribe. (2019). Hacia entornos alimentarios más saludables. pág. 45 -50.

Pardillos, M. C. (2020). El mercado del queso en Ecuador. Embajada España Quito. Quito: España Exportación e Inversiones.

Pechon, J. (2019). la cadena de frío del queso fresco. Cajamarca - Perú.

Vaca, C. (2016). Manual para reconocimiento y la certificación de mercados saludables. Mercados saludables en Ecuador, p.20-40.

Windfuhr, M. -J. (2015). Soberanía Alimentaria, hacia la democracia en sistemas alimentarios locales. FIAN-Internacional: Edición ITDG 2005. Obtenido de http://www.ukabc.org/foodsovpaper.htm

Bayona, M. (2012). Prevalencia de Salmonella y entero parásitos en alimentos y manipuladores de alimentos de ventas ambulantes y restaurantes en un sector del norte de Bogotá, Colombia. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, 15(2), 267-274. https://doi.org/10.31910/rudca.v15.n2.2012.824

Bayona, M. (2019). Evaluación microbiológica de alimentos adquiridos en la vía pública en un sector del norte de Bogotá. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, 12(2), 9-17.

https://doi.org/10.31910/rudca.v12.n2.2009.654

Castellanos, N. A. M., Gómez, L. M. P., Parra, A. K. C., Neiza, N. C. G., Rodríguez, M. C. O., Neira, Y. S. (2019). Microorganismos comúnmente reportados como causantes de enfermedades transmitidas por el queso fresco en las Américas, 2007-2016. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología, 56(1),

Díaz, M., Chávez, M., & Sauceda, E. (2013). Listeria monocytogenes en leche y queso fresco como vehículo transmisor de listeriosis humana en la Provincia de Trujillo, Perú. Revista CIENCIA Y TECNOLOGÍA, 9(2), 23-38.

Díaz-Rivero, C., & García, B. G. de. (2001). Staphylococcus aureus en queso blanco fresco y su relación con diferentes microorganismos indicadores de calidad sanitaria. Revista Salud Pública y Nutrición, 2(3).

Domínguez Carmona, M. (2010). Listeriosis. Una zoonosis emergente de transmisión alimentaria. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia.

FAO. (2019). Food for the Cities: Alimentos de venta callejera.

http://www.fao.org/fcit/food-processing/street-foods/es/

FAO. (2020, agosto 11). La Producción Mundial De Leche Creció 1.3%: FAO. https://www.alfa-editores.com.mx/la-produccion-mundial-de-leche-crecio-1-3-

Food and agriculture organization of the united nations. (2019). Panorama de la seguridad alimentaria y nutricional en América Latina y el caribe 2019.

Food News Latam. (2016). Diagnóstico de la calidad sanitaria en las queserías artesanales. https://www.lacteoslatam.com/sectores/15-quesos/3448-diagnóstico-de-la-calidad-sanitaria-en-las-queserías-artesanales.html

Food Safety. (s. f.). Seguridad alimentaria e Inocuidad Alimentaria. Agrorum s.a. Recuperado 20 de diciembre de 2020, de https://www.agrorum.net/blog/blog-1/post/seguridad-alimentaria-e-inocuidad-alimentaria-48

Fundación Vasca. (2016). Listeria. Elika Seguridad Alimentaria. https://seguridadalimentaria.elika.eus/listeria/

García, Victor. (2011). [PDF] proceso químico en el queso. wiac.info. https://wiac.info/doc-viewer

González, E. G., & Carroza, E. G. (2019a). Enfermedades de Transmisión Alimentaria. Parte I. Badajoz Veterinaria, 16, 26–33.

González, E. G., & Carroza, E. G. (2019b). Enfermedades de Transmisión Alimentaria. Parte II. Badajoz Veterinaria, 17, 14–23.

Gottau, G. (2011, abril 18). Los quesos son agrupados según su contenido de grasas. Vitónica. https://www.vitonica.com/grasas/los-quesos-agrupados-segun-su-contenido-de-grasas

Licata Marcela. (2020). Los quesos. Composición, elaboración y propiedades nutricionales. Zonadiet. https://www.zonadiet.com/comida/queso.htm

Luján, D., Valentín, M., & Molina, M. (2006). Evaluación de la presencia de staphylococcus aureus en quesos frescos artesanales en tres distritos de Lima – Perú. Revista Salud Pública y Nutrición, 7(2). https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?

MEDIAGROUP. (2017, noviembre 8). La importancia del análisis de alimentos— Seguridad alimentaria. https://www.unikagm.com/importancia-analisis-alimentos-seguridad/

MetalBoss. (2019, noviembre 26). La Seguridad Alimentaria y la Inocuidad de los Alimentos.http://www.metalboss.com.mx/la-seguridad-alimentaria-y-la inocuidad-de-los-alimentos

Midia, R. (2018). La importancia de la Inocuidad Alimentaria. Redmi Dia. https://redmidia.com/alimentos/la-importancia-de-la-inocuidad-alimentaria/

Mitchell, C. (2019, junio 6). OPS/OMS | La inocuidad de los alimentos es responsabilidad de todos. Pan American Health Organization / World Health Organization. https://www.paho.org/hq/index.php?

Mora, Valeria. (2017). Principales defectos de los quesos. prezi.com. https://prezi.com/cvmcv5e-abyo/principales-defectos-de-los-quesos/

Municipio Quito - Ecuador. (2019, julio 1). Estrategia municipal para el desarrollo de Mercados saludables. Quito Informa.

Muñoz, A. I., Vargas, M., Otero, L., Díaz, G., Guzmán, V. (2011). Presencia de Listeria monocytogenes en alimentos listos para el consumo, procedentes de plazas de mercado y delicatessen de supermercados de cadena, Bogotá, D.C, 2002-2008. Biomédica, 31(3), 428. https://doi.org/10.7705/biomedica.v31i3.394

Ortuño, P. R. (2019, marzo 20). 3 riesgos microbiológicos que conviene conocer para garantizar la seguridad alimentaria. AINIA.

Pulido, J. G. P. (2010). Derechos de los consumidores y usuarios. Lex Nova.

Ramírez Carolina, C., & Vélez-Ruiz, J. (2016). Quesos frescos: Propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad.

Rivera-Ferre, M. G. (2011). Sin Soberanía Alimentaria no hay seguridad alimentaria. Soberanía alimentaria, biodiversidad y culturas, 5, 0011-0017.

Romero, T. (2014, agosto 13). Suministro de frío en productos lácteos -. https://www.mundohvacr.com.mx/2014/08/suministro-de-frio-en-productos-lacteos/

Romero-Castillo, P. A., Leyva-Ruelas, G., Cruz-Castillo, J. G. (2009). Evaluación de la calidad sanitaria de quesos crema tropical mexicano de la región de tonalá, chiapas. 8(1), 10.

Seriche, C., & Paola, S. (2020). Internalización de bacterias asociadas a enfermedades de transmisión alimentaria en Candida albicans y levaduras aisladas desde alimentos.

Soto Varela, Z., Pérez Lavalle, L., & Estrada Alvarado, D. (2016). Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: Una mirada en Colombia. Revista Salud Uninorte, 32(1), 105–122.

Vásquez, F. C. M., Martínez, G. R., Mancera, V. M. M., Ávila, L. E. O., Vargas, M. R. (2017). Análisis microbiológico y su relación con la calidad higiénica y sanitaria de la leche producida en la región del Alto de Chicamocha (departamento de Boyacá). Revista de Medicina Veterinaria, 14, 61-83.

Zafra Aparici, E., Muñoz García, A., Larrea-Killinger, C. (2016). ¿Sabemos lo que comemos?: Percepciones sobre el riesgo alimentario en Cataluña, España. Salud Colectiva, 12, 505-518. https://doi.org/10.18294/sc.2016.932

Arboleda, T. (2007). Contra los patógenos en los quesos: Una cuestión de buenas prácticas. Pesquisa Javeriana. 1(3). https://www.javeriana.edu.co/pesquisa/wp-content/uploads/pesquisa03_02.pdf

Hernández, N.; Durán, T. (2013). Calidad sanitaria de los puntos iniciales de proceso de manufactura de queso. Horizonte Sanitario, 12, 2, 58-62. http://www.scielo.org.co/pdf/rsap/v19n3/0124-0064-rsap-19-03-00311.pdf

Orozco, B. (2018). Incidencia de Enterobacteriaceae y Staphylococcus aureus en quesos frescos en empresas del cantón Cayambe. 2018. Tesis de Licenciatura.

ANEXOS

Anexo 1.- Datos de recuento microbiológico por microorganismo.

ENTEROBACTERIAS (ufc/g)

MUESTRAS / REPETICIONES	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
1	1,90E+04	6,40E+03	5,60E+03	2,00E+02	1,20E+04	0	0	4,00E+03
2	1,20E+05	1,20E+04	2,40E+04	7,00E+02	8,40E+04	0	0	4,00E+04
3	1,20E+05	7,80E+03	1,30E+04	6,00E+02	8,30E+04	0	0	4,00E+04
4	6,40E+05	7,00E+04	7,80E+04	6,00E+02	4,10E+05	0	0	3,20E+04
5	1,20E+05	7,80E+03	1,30E+04	6,00E+02	8,30E+04	0	0	4,00E+04
	2,25E+05	**2,41E+04**	**3,02E+04**	**5,25E+02**	**1,47E+05**	**0,00E+00**	**0,00E+00**	**2,90E+04**

STAPHYLOCOCCUS AUREUS (ufc/g)

MUESTRAS / REPETICIONES	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
1	6,80E+03	9,00E+02	1,70E+03	8,00E+02	4,60E+03	1,10E+03	6,00E+03	5,50E+03
2	2,80E+05	3,00E+04	8,30E+04	2,50E+04	2,00E+05	3,70E+04	2,20E+05	1,80E+05
3	2,00E+05	3,10E+04	4,50E+04	2,70E+04	1,20E+05	4,10E+04	1,80E+05	1,90E+05
4	2,00E+05	2,90E+04	5,00E+04	2,80E+04	1,20E+05	3,60E+04	2,00E+05	1,80E+05
5	2,80E+05	3,00E+04	8,30E+04	2,50E+04	2,00E+05	3,70E+04	2,20E+05	1,80E+05
	1,72E+05	**2,27E+04**	**4,49E+04**	**2,02E+04**	**1,11E+05**	**2,88E+04**	**1,52E+05**	**1,39E+05**

E.COLI (ufc/g)

MUESTRAS / REPETICIONES	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
1	5,50E+02	0	3,00E+03	4,30E+02	4,00E+01	1,50E+03	8,00E+01	7,00E+05
2	1,60E+06	0	3,00E+05	2,00E+05	7,50E+06	4,50E+06	3,20E+06	7,00E+05
3	9,00E+05	0	0	2,00E+05	8,00E+06	2,00E+06	2,70E+06	2,00E+05
4	8,00E+05	0	0	1,00E+05	8,20E+06	3,00E+06	3,00E+06	2,00E+05
5	9,00E+05	0	0	2,00E+05	8,00E+06	2,00E+06	2,70E+06	2,00E+05
	8,25E+05	**0,00E+00**	**7,58E+04**	**1,25E+05**	**5,93E+06**	**2,38E+06**	**2,23E+06**	**4,50E+05**

COLIFORMES (ufc/g)

MUESTRAS / REPETICIONES	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
1	3,30E+03	4,00E+02	0	9,30E+02	3,20E+06	8,00E+03	8,50E+03	1,30E+03
2	7,70E+06	2,40E+06	1,00E+05	3,00E+06	1,20E+07	2,50E+07	2,60E+07	2,70E+06
3	6,10E+06	0	1,00E+05	1,50E+06	3,80E+06	2,10E+07	3,10E+07	3,10E+06
4	6,10E+06	0	0	1,00E+06	3,80E+06	2,00E+07	2,70E+07	2,50E+06
5	6,10E+06	0	0	1,00E+06	3,80E+06	2,00E+07	2,70E+07	2,50E+06
	4,98E+06	**6,00E+05**	**5,00E+04**	**1,38E+06**	**5,70E+06**	**1,65E+07**	**2,10E+07**	**2,08E+06**

LISTERIA (ufc/g)

MUESTRAS / REPETICIONES	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
1	6,00E+01	1,00E+03	7,20E+02	0	0	0	0	5,00E+02
2	0	0	0	0	0	0	0	1,00E+01
3	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0
	1,20E+01	**2,00E+02**	**1,44E+02**	**0,00E+00**	**0,00E+00**	**0,00E+00**	**0,00E+00**	**1,02E+02**

Anexo 2.-Ficha de observación características de la muestra

UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI

Maestría en Agroindustria, Mención Tecnología de Alimentos

Tema de Investigación: Evaluación de la calidad microbiológica en quesos frescos de producción artesanal expendidos en el mercado cerrado Latacunga

GUIA DE OBSERVACIÓN

Muestra	Fecha de muestreo	Hora de inicio muestreo	Hora fin de muestreo

CARACTERISTICAS DE LA MUESTRA

N° muestra	Codificación	Peso	Local Comercial	Características Organolépticas		Refrigeración		Empaque Plástico		Exposición del producto		Registro fecha de elaboración		Observaciones
				Color	Olor	Si	No	Si	No	Ambiente	Cámara de frio	Si	No	

Anexo 3.- Características del local de Comercialización

UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI

Maestría en Agroindustria, Mención Tecnología de Alimentos

Tema de Investigación: Evaluación de la calidad microbiológica en quesos frescos de producción artesanal expendidos en el mercado cerrado Latacunga

GUIA DE OBSERVACIÓN

Muestra	Fecha de muestreo	Hora de inicio	Hora fin	

CARACTERÍSTICAS DEL LOCAL DE COMERCIALIZACIÓN

Local Comercial	Señalización		Áreas internas divididas		Lavado de piso, mesones paredes		Desinfección del local		Ventilación		Ubicación de puestos		Uso de utensilios		Transporte del producto		
	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Suficiente	Deficiente	Adecuada	Inadecuada	Adecuado	No adecuado	Baldes	Gavetas	Cajones

Anexo 4.- Características del manipulador del producto.

UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI

Maestría en Agroindustria, Mención Tecnología de Alimentos

Tema de Investigación: Evaluación de la calidad microbiológica en quesos frescos de producción artesanal expendidos en el mercado cerrado Latacunga

GUIA DE OBSERVACIÓN

Muestra	Fecha de muestreo	Hora de inicio		Hora fin	

CARACTERÍSTICAS DEL MANIPULADOR O COMERCIANTE DEL PRODUCTO.

Certificado de salud			Vestimenta		Aseo de manos		Higiene personal								
Actualizado	Caducado	No dispone	Limpia	Color blanco	Frecuente	No frecuente	Cabello recogido		Uñas cortas		Uso de mascarilla		Uso de Maquillaje, joyas		Observaciones
							Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	

Anexo 5.- Certificaciones de método de recuento rápido por la técnica de Placas Petrifilm

3M™ Petrifilm™ Plate Certificates, Recognitions and Validations

3M Microbiology is certified to ISO-9001 for design and manufacturing

International Recognition:

AFNOR

▪ All foods:	▪ Aerobic Count Plates	▪ AFNOR Certificate Number 3M 01/1-09/89 (as compared to ISO 4833 method)
▪ All foods: (except raw shellfish)	▪ Coliform Count Plates 24 hour total coliform result	▪ AFNOR Certificate Number 3M 01/2-09/89A (as compared to ISO 4832 VRBL method)
▪ All foods: (except raw shellfish)	▪ Coliform Count Plates 24 hour total coliform result	▪ AFNOR Certificate Number 3M 01/2-09/89B (as compared to ISO 4831 MPN method)
▪ All foods:	▪ Coliform Count Plates 24 hour thermotolerant coliform result	▪ AFNOR Certificate Number 3M 01/2-09/89C (as compared to V08-017 VRBL 44.5°C method)
▪ All foods:	▪ Select E. coli Count Plates	▪ AFNOR Certificate Number 3M 01/8-06/01 (as compared to ISO 16649-2 *E. coli* method)
▪ All foods:	▪ Rapid Coliform Count Plates 14 hour result (Incubate at 30°C for processed pork products)	▪ AFNOR Certificate Number 3M 01/5-03/97A (as compared to ISO 4832 VRBL 30°C method)
▪ All foods:	▪ Rapid Coliform Count Plates 24 hour result (Incubate at 30°C for processed pork products)	▪ AFNOR Certificate Number 3M 01/5-03/97B (as compared to ISO 4832 VRBL 30°C method)
▪ All foods: (except processed pork products)	▪ Rapid Coliform Count Plates 24 hour result	▪ AFNOR Certificate Number 3M 01/5-03/97C (as compared to ISO 4831 MPN method)
▪ All foods:	▪ Enterobacteriaceae Count Plates	▪ AFNOR Certificate Number 3M 01/6-09/97 (as compared to ISO 7402 method)
▪ All foods:	▪ High-Sensitivity Coliform Count Plates	▪ AFNOR Certificate Number 3M 01/7-03/99 (as compared to ISO 4831 MPN method)
▪ All foods:	▪ Staph Express Count System	▪ AFNOR Certificate Number 3M 01/9-04/03 (as compared to EN ISO 6888-1 method)

AOAC® INTERNATIONAL Official Method of Analysis℠

▪ Raw and pasteurized milk:	▪ Aerobic Count, Coliform Count Plates	▪ Method 986.33
▪ Dairy products:	▪ Aerobic Count, Coliform Count Plates ▪ High-Sensitivity Coliform Count Plates	▪ Method 989.10 ▪ Method 996.02
▪ Foods:	▪ Aerobic Count Plates ▪ Coliform Count, E. coli/Coliform Count Plates ▪ Yeast and Mold Count Plates ▪ Rapid Coliform Count Plates	▪ Method 990.12 ▪ Method 991.14 ▪ Method 997.02 ▪ Method 2000.15
▪ Poultry, meats and seafood:	▪ E. coli/Coliform Count Plates	▪ Method 998.08
▪ Selected foods:	▪ Rapid S. aureus Count System ▪ Enterobacteriaceae Count Plates	▪ Method 2001.05 ▪ Method 2003.01
▪ Selected processed and prepared foods: ▪ Selected dairy foods: ▪ Selected poultry, meats and seafood:	▪ Staph Express Count System ▪ Staph Express Count System ▪ Staph Express Count System	▪ Method 2003.07 ▪ Method 2003.08 ▪ Method 2003.11

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (FIL/IDF) Bulletins 285/1993 and 350/2000

Anexo 6.-Aval de Experto

Anexo 7.- Aval de Usuario.