



**UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL  
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL  
DESARROLLO**

**CARRERA: INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**TÍTULO:**

**Determinación de la presencia de *Salmonella* en queso fresco comercializado en el cantón Chone provincia de Manabí entre Mayo y Julio del 2014.**

**AUTOR:**

**Zambrano Macay Mario Alberto.**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PREVIO A LA  
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO  
AGROPECUARIO CON MENCIÓN EN GESTIÓN  
EMPRESARIAL.**

**TUTOR:**

**Ing. Velásquez Rivera Jorge Ruperto, M.Sc.**

**Guayaquil, Ecuador  
2014**



**UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL  
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

## **CERTIFICACIÓN**

Certificamos que el presente trabajo fue realizado en su totalidad por el Sr. Mario Alberto Zambrano Macay como requerimiento parcial para la obtención del Título de Ingeniero Agropecuario con Mención en Gestión Empresarial Agropecuaria.

### **TUTOR**

---

Ing. Jorge Ruperto Velásquez Rivera, M.Sc.

### **DIRECTOR DE LA CARRERA**

---

Ing. John Eloy Franco Rodríguez, M.Sc.

**Guayaquil, a los 26 días del mes de Septiembre del año 2014**



UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL  
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

## DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, **Mario Alberto Zambrano Macay**

### DECLARO QUE:

El Trabajo de Titulación “**Determinación de la presencia de *Salmonella* en queso fresco comercializado en el cantón Chone provincia de Manabí**” previa a la obtención del Título de **Ingeniero Agropecuario con mención en Gestión Empresarial Agropecuaria**, ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan al pie de las páginas correspondientes, cuyas fuentes se incorporan en la bibliografía. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance científico del Trabajo de Titulación referido.

**Guayaquil, a los 26 días del mes de Septiembre del año 2014**

**EL AUTOR**

---

Mario Alberto Zambrano Macay



UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL  
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

## AUTORIZACIÓN

Yo, **Mario Alberto Zambrano Macay**

Autorizo a la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, la **publicación** en la biblioteca de la institución del Trabajo de Titulación: **Determinación de la presencia de *Salmonella* en queso fresco comercializado en el cantón Chone provincia de Manabí**, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y total autoría.

**Guayaquil, a los 26 días del mes de Septiembre del año 2014**

**EL AUTOR:**

---

Mario Alberto Zambrano Macay

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios todopoderoso, por permitirme concluir mi carrera de Ingeniería Agropecuaria y a mis padres por brindarme siempre su apoyo.

Mario Alberto Zambrano Macay

## **DEDICATORIA**

A mis padres, a toda mi familia por ser los pilares fundamentales para conseguir mi primer título académico.

Mario Alberto Zambrano Macay



**UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL  
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL  
DESARROLLO  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**CALIFICACIÓN**

---

Ing. Jorge Ruperto Velásquez Rivera, M.Sc.

# ÍNDICE GENERAL

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1.1	Objetivo general.....	3
1.2	Objetivos específicos.....	3
1.3	Hipótesis nula.....	3
1.4	Hipótesis alternativa.....	3
<b>2</b>	<b>REVISIÓN DE LA LITERATURA</b> .....	<b>4</b>
2.1	Producción lechera en Ecuador.....	4
2.1.1	Zonas productoras de lácteos en Ecuador.....	5
2.2	Queso fresco.....	6
2.2.1	Definición formal.....	6
2.2.2	Producción de queso fresco.....	7
2.2.3	Instalaciones para la producción de queso fresco.....	7
2.2.4	Características de la leche destinada a la elaboración de queso.....	8
2.2.5	Importancia de los componentes de la leche.....	9
2.2.6	Componentes del queso fresco.....	9
2.2.7	Proceso de fabricación del queso fresco.....	10
2.2.8	Valor nutricional del queso fresco.....	11
2.3	<i>Salmonella</i> .....	12
2.3.1	Generalidades.....	12
2.3.2	Taxonomía.....	12
2.3.3	<i>Salmonella entérica</i> .....	13
2.4	Regularización de la producción de queso fresco.....	14
2.4.1	Codex alimentarius.....	14
2.4.2	Instituto ecuatoriano de la normalización (INEN).....	15
<b>3</b>	<b>MARCO OPERACIONAL</b> .....	<b>19</b>
3.1	Ubicación del ensayo.....	19



3.2	Materiales.....	19
3.3	Diseño experimental.....	19
3.4	Metodología.....	22
3.4.1	Consideraciones técnicas usadas para la toma de muestras.....	22
3.4.2	Plan de muestreo.....	23
3.4.3	Toma de muestras de queso fresco.....	23
3.4.4	Envío de las muestras al laboratorio.....	24
3.5	Metodología.....	24
3.6	Resultados y discusión.....	27
<b>4</b>	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>30</b>
4.1	Conclusiones:.....	30
4.2	Recomendaciones:.....	31
<b>5</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>32</b>
<b>6</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>35</b>

# ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Producción diaria de leche según tamaños de UPA.....	4
Tabla 2: Principales provincias productoras de leche en Ecuador.....	5
Tabla 3: Composición nutricional del queso fresco.....	11
Tabla 4: Taxonomía del bacillo <i>Salmonella</i> .....	13
Tabla 5: Requisitos de humedad y grasa para el queso fresco.....	17
Tabla 6: Requisitos microbiológicos para el queso fresco.....	17
Tabla 7: Productores de queso fresco en el cantón Chone.....	20
Tabla 8: Productores de queso fresco en el cantón Chone.....	21
Tabla 9: Plan de muestreo de queso fresco.....	23
Tabla 10: Resultados de la identificación de UFC de <i>Salmonella</i> .....	27
Tabla 12: Resultado de UFC de <i>Salmonella</i> en la dilución ( $10^{-3}$ ).....	28
Tabla 13: Análisis de varianza de UFC de <i>Salmonella</i> .....	28
Tabla 14: Análisis de varianza de UFC de <i>Salmonella</i> .....	28
Tabla 15: Ordenamiento y datos estadísticos de las UFC contadas en las muestras obtenidas $10^{-3}$ .....	29

# ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Resultados porcentual y total de cajas Petri con <i>Salmonella</i> en muestras obtenidas de productores primarios.....	22
---	----

## RESUMEN

En la presente investigación, se propuso establecer la presencia o ausencia de *Salmonella* en el queso fresco que se comercializa en el mercado principal en Chone, provincia de Manabí, usando la recopilación de datos in situ, lo que nos llevó a identificar 35 puntos de origen de queso fresco, posteriormente se tomaron y evaluaron las correspondientes muestras en el laboratorio utilizando agar SS, usando como base la metodología para identificación de la NTE INEN 1529-15 (1996).

Luego de realizar un sistema de muestreo y análisis se determinó una incidencia alta de *Salmonella* en los quesos que suministra el mercado de la localización estudiada, sin embargo cabe destacar que hubo un 20% de quesos muestreados que no presentaron *Salmonella*, cumpliendo de este modo con la NTE INEN 1528.

**Palabras clave:** *Salmonella*, queso, muestra, INEN, Chone, Agar SS.

## ABSTRACT

In the following investigation the purpose was to establish either the present or the unpresence of *Salmonella* in cheese that is traded in the main commercial market in Chone, province of Manabí, collecting data using situ did help us identify 35 points of origin of fresh cheese, later on we take and evaluate the corresponding lab tests using AGAS SS using as a base methodology that identifies the NTE INEN 1529-1996.

After using the sampling system and analyzing them it can determine the high levels of *Salmonella* in cheeses that are found in the market of the location we are studying, however we can see that there was a 20 percent of cheeses that were sampled that didn't have *Salmonella*, fulfilling with the standard of NTE INEN 1528.

**KEYWORDS:** *Salmonella*, cheese, sampling, INEN, Chone, Agar SS.

# 1 INTRODUCCIÓN

La elaboración de queso fresco como principal derivado de la industria láctea representa un importante punto de enfoque como sub-sector de la alimentación en América Latina, pues buena parte del producto comercializado proviene de pequeños y medianos productores. Ecuador como territorio de aptitud agropecuaria no escapa a esta noción; la economía rural en zonas lecheras se basa casi enteramente en la producción y venta de leche entera y queso fresco; sobre todo éste último que utiliza el 25% de la leche cruda no industrializada a gran escala, denotando así la enorme importancia de la producción quesera a nivel nacional.

La fabricación y distribución de queso fresco en nuestro país requiere en teoría del cumplimiento de la normativa INEN y el consecuente acatamiento de las buenas prácticas de manufactura (BPM) que incluye una cadena de frío (necesaria para el almacenamiento, distribución y comercialización), además de requisitos microbiológicos a fin de evitar la aparición de Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETA's), por lo que dentro del análisis correspondiente los productos deben contener conteos bajos o nulos de microorganismos como por ejemplo *Salmonella*, incluyendo sus metabolitos y toxinas, lo cual garantizará adecuadas condiciones sanitarias del producto hacia el consumidor.

Es un hecho sin embargo que llevado a la práctica, en la provincia de Manabí y más específicamente en el cantón Chone las condiciones actuales de fabricación dentro de las pequeñas y medianas plantas productoras de marcas poco conocidas en el mercado nacional no satisfacen completamente la normativa INEN. El consumo per cápita de queso fresco medido en litros de leche utilizados se encuentra rodeando los 29 litros; el aumento en el precio de la leche produjo una baja en la venta de leche pasteurizada, a pesar de la prohibición para la venta de leche cruda sin embargo es posible, de manera esporádica, aun encontrar queso fresco sin registro sanitario o de difícil verificación (pues también es ofertado al granel), lo que sumado al uso de insumos de baja calidad y de materiales deficientes

para su elaboración decae en la aparición de ETA's, producidas por los microorganismos patógenos, de naturaleza gastrointestinales y ocasionalmente severas que requerirán de atención hospitalaria.

Al ser el queso fresco un producto de primera necesidad, considerado dentro de la canasta básica, es un hecho alarmante la aparición de cualquier enfermedad producida por el consumo del mismo ya que representa un problema de salud pública y un perjuicio socioeconómico a los consumidores, dado que ahonda dentro de los indicadores de pobreza y la calidad de vida de los habitantes directamente relacionados con la producción y consumo del queso.

Las prácticas de manufactura deficientes en los centros de producción permiten que el riesgo de contaminación microbiana de los quesos frescos aumente, esto, acompañado de la ausencia de frío en toda la cadena, siendo incluso el consumidor un punto importante en la conservación del producto.

Por tanto me resulta necesario, como productor lechero de la zona estudiada, en la presente tesis establecer de manera fidedigna a través de análisis microbiológicos y estadísticos la calidad higiénica del queso fresco según la normativa INEN en cuanto a la presencia de *Salmonella*, de modo que usando el presente trabajo se pueda luego proponer medidas necesarias y eficientes para mejorar la calidad de los productos ofertados ya que se sabe que el denominado "queso manaba" es bastante apetecido por los consumidores, esto es un factor importante debido a que se le daría valor agregado al producto ofertado, se generaría confianza de parte de los consumidores y se motivaría incluso un sistema de mejora constante para el sector de manufactura de queso fresco manaba, donde cualquier cambio positivo generado a nivel de las fábricas artesanales tendría un gran impacto en la calidad del producto ofertado y por ende en la salud, la nutrición y calidad de vida de la población del sector.

## **1.1 Objetivo general.**

Determinar la presencia de *Salmonella* en el queso fresco comercializado en el cantón Chone provincia de Manabí entre Mayo y Julio del 2014.

## **1.2 Objetivos específicos.**

- Elaborar un plan de muestreo de los quesos frescos comercializados en el cantón Chone provincia de Manabí.
- Analizar las muestras para la determinación de unidades formadoras de colonias (UFC) por conteo de *Salmonella*.
- Comparar los resultados con la NTE INEN 1529-15 (1996).

## **1.3 Hipótesis nula.**

Los quesos muestreados de en las distintos puntos de producción de Chone no dan resultados positivos que indiquen presencia de *Salmonella*.

## **1.4 Hipótesis alternativa.**

Los quesos muestreados de en las distintos puntos de producción de Chone dan resultados positivos que indiquen presencia de *Salmonella*.



## 2 REVISIÓN DE LA LITERATURA

### 2.1 Producción lechera en Ecuador.

En Ecuador la producción lechera se encuentra dispersa en distintos puntos ubicados a lo largo y ancho del territorio nacional, pero concentrados en su mayor parte en las regiones del litoral y sierra. La mayor parte de la leche cruda proviene de predios de menos de 50 has, clasificada dentro de la denominación UPA o unidad de producción agropecuaria, según el último Censo Nacional Agropecuario realizado por MAGAP:

**Tabla 1: Producción diaria de leche según tamaños de UPA.**

<b>Tamaños de la UPA</b>	<b>Producción Leche de vaca (Litros)</b>
Menos de 1 ha.	224.469
De 1 a menos de 2 has.	191.574
De 2 a menos de 3 has.	160.228
De 3 a menos de 5 has.	227.188
De 5 a menos de 10 has.	327.755
De 10 a menos de 20 has.	345.282
De 20 a menos de 50 has.	644.654
De 50 a menos de 100 has.	531.871
De 100 a menos de 200 has.	432.847
De 200 has o más.	439.098
<b>TOTAL NACIONAL</b>	<b>3.525.027</b>

Fuente: (MAGAP, 2012).

Para comprender más profundamente la anterior tabla se debe tener en cuenta algo muy importante: La categorización de las UPAs en el presente estudio se basa en lo mostrado en el artículo “Buenas prácticas de ordeño y calidad higiénica de la leche en el Ecuador” (García & Requelme, 2011) donde en dicho análisis se plantea que:

- UPAs pequeñas:
  - **Costa:** De 1 hasta menos de 50 has.
  - **Sierra:** De 1 hasta menos de 5 has.

- UPAs medianas:
  - **Costa:** De 50 hasta menos de 100 has.
  - **Sierra:** De 5 hasta menos de 20 has.
- UPAs grandes:
  - **Costa:** Más de 200 has.
  - **Sierra:** Más de 100 has.

La utilidad de lo anteriormente descrito radica en la diferenciación entre regiones y categorías de UPAs que se pueden tener para futuros estudios basados en el aquí presente.

### 2.1.1 Zonas productoras de lácteos en Ecuador.

El artículo de la revista “La granja” (García & Requelme, 2011) menciona que las principales provincias lecheras del Ecuador son Pichincha, Azuay, Chimborazo, Carchi, Imbabura, Manabí y Guayas; lo que se correlaciona a los resultados del Censo Nacional Agropecuario (**Tabla #2**).

**Tabla 2: Principales provincias productoras de leche en Ecuador.**

Provincia	Producción diaria (L) Leche de vaca
Azuay	281.984
Carchi	168.816
Chimborazo	277.294
Imbabura	92.551
Guayas	132.336
Manabí	156.419
Pichincha	720.666

Fuentes: (MAGAP, 2012), (MAGAP, 2013), (MIPRO, 2011)

Si se toma en cuenta lo mostrado en la **Tabla #1**: La producción diaria de leche en el Ecuador se ubica en 3.525.027 litros (MAGAP, 2012) mientras que la sumatoria de lo indicado en la **Tabla #2** representa 1.830.066 litros diarios, lo que indica que aproximadamente un 51.92% de la producción

nacional diaria de leche está concentrada en esas 7 provincias, más de la mitad de la producción de nacional.

### **2.1.1.1 Producción de lácteos en la provincia de Manabí.**

El Ministerio de Coordinación de la Producción, Empleo y Competitividad muestra que en la provincia de Manabí diariamente se produce un aproximado a 156.419 litros de leche (MCPEC, 2011), lo que es una clara evidencia del gran potencial lechero de la provincia ubicada en el Litoral Ecuatoriano.

## **2.2 Queso fresco.**

El tratado de Nutrición (Gil, 2010) define al queso fresco como los que “se obtienen predominantemente por coagulación ácida. Se caracterizan por su consistencia blanda y alto contenido de agua”, además también menciona que “es el que está dispuesto para el consumo al finalizar el proceso de fabricación”. Por su parte el Instituto Ecuatoriano de Normalización define: “Queso fresco. Es el queso no madurado, ni escaldado, moldeado, de textura relativamente firme, levemente granular, preparado con leche entera, semidescremada, coagulada con enzimas y/o ácidos orgánicos, generalmente sin cultivos lácticos. También se designa como queso blanco.” (INEN, 2012)

Sintetizando, el queso fresco como derivado lácteo, es el de más sencilla fabricación, pudiéndose elaborar incluso artesanalmente en puntos de producción lechera de todo el Ecuador.

### **2.2.1 Definición formal.**

El tratado de Nutrición (Gil, 2010) define al queso fresco como los que “se obtienen predominantemente por coagulación ácida. Se caracterizan por su consistencia blanda y alto contenido de agua”, además también menciona que “es el que está dispuesto para el consumo al finalizar el proceso de fabricación”. Por su parte el Instituto Ecuatoriano de Normalización define:

“Queso fresco. Es el queso no madurado, ni escaldado, moldeado, de textura relativamente firme, levemente granular, preparado con leche entera, semidescremada, coagulada con enzimas y/o ácidos orgánicos, generalmente sin cultivos lácticos. También se designa como queso blanco.” (INEN, 2012)

Sintetizando, el queso fresco como derivado lácteo, es el de más sencilla fabricación, pudiéndose elaborar incluso artesanalmente en puntos de producción lechera de todo el Ecuador.

### **2.2.2 Producción de queso fresco.**

En condiciones ideales la producción de queso fresco debe realizarse utilizando materia prima e implementos de excelente calidad, lo cual va a garantizar que el producto final sea apto para el consumo humano además de tener valor agregado y un buen precio de venta al público; no siendo solamente eso los beneficios relativos, sino también teniendo un importante impacto en la salud de los consumidores es por ello que durante todo el proceso de elaboración el aspecto cualitativo será sumamente importante.

### **2.2.3 Instalaciones para la producción de queso fresco.**

Una planta productora de quesos sin importar su capacidad debe tener un determinado grado de tecnificación, condición que resulta ineludible por la naturaleza de su actividad: la fabricación de alimentos perecibles para su inmediata distribución; en el cantón Chone se puede distinguir claramente la existencia de 2 tipos de instalaciones queseras, a saber:

- **No tecnificadas o artesanales.-** Son aquellas donde todo el proceso de fabricación del queso se da de manera artesanal, es decir, no se realiza ningún tratamiento previo a la leche utilizada para elaborar el queso fresco y su envasado y distribución se realiza de manera informal, es decir sin el respectivo etiquetado que de indicio del origen que tuvo este producto. Sus instalaciones no están distribuidas adecuadamente.
- **Tecnificadas.-** Cumplen totalmente con el uso de etiquetados que denoten su origen, la leche utilizada como materia prima es sometida a pasteurización y todo el proceso se realiza con asepsia. La FAO

(2013) menciona que el local debe tener el tamaño suficiente para albergar áreas como: recepción de la leche, pasteurización, coagulación, moldeado, empaque, cámara de frío, bodega, laboratorio, oficina, servicios sanitarios y vestidor, además la construcción debe ser en bloc y las paredes deben estar cubiertas de azulejo hasta una altura de 2 metros. También se describe que se debe contar con piso, ventanales y techo adecuado para la actividad a realizar y debe contar con equipos como: Tina quesera, cuchillos, liras de corte, moldes, termómetro, balanza y equipos de laboratorio.

Como se podrá apreciar más adelante, en la Gráfico 2, los productores que cumplen con poseer instalaciones tecnificadas apenas representan el 20% de la población total de queseros en el cantón Chone.

#### **2.2.4 Características de la leche destinada a la elaboración de queso.**

Tomando en cuenta lo indicado en la tesis “Diseño para la implementación de la metodología *Seis Sigma* en una línea de producción de queso fresco” (Moreano Santos , 2009), entre las características sobresalientes de la leche se puede mencionar la ausencia de antibióticos o neutralizantes, ya que estos afectan al desarrollo de bacterias lácticas.

Es importante tener en cuenta la acidez, cuyo valor normal oscila entre 16°D-08°D lo que nos dice que en caso de ser menor puede ser indicativo de adición de agua y en caso de ser mayor sería síntoma de una posible contaminación bacteriana.

Por otro lado la densidad de la leche será un claro indicativo de adición de agua, en caso de ser menor al rango normal, pues su valor normal debe estar entre 1,028 a 1,031 g/cc a una temperatura de 15°C, en caso de ser mayor puede indicarse un posible descremado de la misma.

## **2.2.5 Importancia de los componentes de la leche.**

Considerando lo expuesto en la tesis de Annabel Moreano (Moreano Santos, 2009):

- La leche debe estar libre de antibióticos o neutralizantes ya que estos afectan al desarrollo de microorganismos.
- El contenido de agua es sumamente importante ya que favorece al crecimiento microbiano además de afectar la textura del queso y tiempo de conservación.
- El contenido de grasa de la leche será responsable en gran parte del aroma, la consistencia y sabor del queso; no debe haber menos del 3% de grasa u 8.2% de sólidos no grasos en la leche usada para fabricar queso fresco.
- En referencia al contenido proteínico de la leche, la caseína es la más importante puesto que afecta a la textura, olor y sabor del queso.
- La lactosa, el disacárido propio de la leche, en la fabricación del queso será fermentado para producir ácidos láctico, propiónico, butírico, alcohol y anhídrido carbónico que serán también responsables del sabor y olor del queso.
- Moreano Santos (2009) sostiene que la leche contiene también vitaminas: A, C, D, E, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, Tiamina, Rivaflavina, folatos y equivalentes de aminoácidos; cumplen funciones coenzimáticas en las reacciones enzimáticas además de contribuir al valor nutricional del queso.
- Las sales que se encuentran en mayor proporción en la leche son los citratos, fosfatos y lactatos que influyen en la formación de la cuajada el desuerado y en la textura.

## **2.2.6 Componentes del queso fresco.**

INEN citando al *Codex Alimentarius* establece que los componentes básicos para elaborar un queso fresco, además de la leche, son:

- "Cultivos de fermentos de bacterias inocuas productoras de ácido láctico y/o aromas y cultivos de otros microorganismos inocuos.
- Cuajo u otras enzimas coagulantes inocuas e idóneas.

- Cloruro de sodio.
- Vinagre.” (FAO; OMS, 2013)

### **2.2.7 Proceso de fabricación del queso fresco.**

En base a lo indicado en el “Tratado de nutrición” (Gil, 2010) la fabricación del queso se puede describir de la siguiente manera:

- 1. Recepción.-** Se almacena la leche entera y posteriormente se filtran las macromoléculas ahí presentes a fin de eliminar parte de las impurezas.
- 2. Tratamiento térmico.-** Pasteurización, realizada a fin de eliminar los microorganismos patógenos que puedan afectar a la calidad del producto.
- 3. Adición de sales y aditivos.-** El cloruro de calcio añadido en este punto contribuirá a la obtención de tiempos de coagulación constantes además de la obtención de un coágulo de firmeza suficiente.
- 4. Cuajado de la leche.-** Este se puede producir por acidificación del medio o la adición del cuajo, la mayoría de los quesos se obtienen por el uso de ambos métodos.  
Durante la elaboración del cuajo este se somete a agitación mecánica y calentamiento gradual; esto combinado a la acción de los microorganismos benéficos resulta en la separación del lactosuero de la cuajada.
- 5. Eliminación del lactosuero.-** Gran parte de este se elimina en esta parte del proceso, donde ya colocado en los moldes, el cuajo es prensado y de aquí se eliminará la mayor parte de la lactosa contenida en el lactosuero. Las proteínas no coaguladas y parte variable de otros componentes además del lactosuero conservado determinarán características del queso como dureza, textura, etc.
- 6. Salado del queso.-** Se puede hacer en seco o por inmersión en baño de salmuera.
- 7. Almacenamiento.-** Se debe hacer siguiendo la cadena de frío propia en el procesamiento de productos perecibles.

## 2.2.8 Valor nutricional del queso fresco.

El servicio de investigación agrícola de Estados Unidos muestra los componentes nutricionales del queso de la siguiente manera:

**Tabla 3: Composición nutricional del queso fresco.**

<b>COMPONENTE</b>	<b>UNIDAD</b>	<b>VALOR EN 100 g</b>
<b>Proximales</b>		
Agua	g	48,70
Energía	Kcal	310
Proteína	g	20,38
Total de lípidos	g	24,31
Carbohidratos, por diferencia	g	2,53
Azúcares, total de	g	1,76
<b>Minerales</b>		
Calcio (Ca)	mg	6,90
Hierro (Fe)	mg	0,18
Magnesio (Mg)	mg	29
Fósforo (P)	mg	467
Potasio (K)	mg	126
Sodio (Na)	mg	704
Zinc (Zn)	mg	3,06
<b>Vitaminas</b>		
Tiamina	mg	0,048
Rivoflavina	mg	0,230
Niacina	mg	0,035
B6	mg	0,086
B12	g	1,75
Vitamina A, RAE	g	157
Vitamina A, IU	IU	555
Vitamina E	mg	0,47
Vitamina D (D2+D3)	g	0,7
Vitamina D	IU	27
Vitamina K	g	1,6
<b>Lípidos</b>		
Ac. Grasos saturados	g	13,661
Ac. Grasos monoinsaturados	g	6,459
Ac. Grasos poliinsaturados	g	1,149
Ac. Grasos trans	g	0,890
Colesterol	mg	70

Fuente: (USDA, 2012)



## **2.3 Salmonella.**

### **2.3.1 Generalidades.**

*Salmonella*, es un género de bacilos Gram negativos, (Pereira Sanandres, González Pedraza, Soto Varela, Hernández Aguirre, & Villarreal Camacho, 2014) manifiestan que son microorganismos “anaeróbicos facultativos, no esporulados, generalmente móviles por flagelos peritricos que utilizan citrato como única fuente de carbono y poseen metabolismo del tipo oxidativo y fermentativo”, por su parte (Sánchez Rodríguez, Serrano Jiménez, Marfil Navarro, & Jodral Villarejo, 2011) acotan, con respecto al tamaño, se encuentran en un rango de 1-2 micrómetros, además del hecho que la gran mayoría de los representantes de esta familia se encuentran dentro del intestino de muchos animales, incluyendo al hombre; en papel de comensal, llegando a ser muchas veces un patógeno que causa Disentería y fiebres entéricas son los síntomas propios de la infección por *Salmonella*, además sus fuentes de infección son las heces y la orina de animales y humanos en general según lo mencionan Cameán & Repetto (2012).

Además (Sánchez Rodríguez, et al, 2011) argumentan en referencia a las pruebas de laboratorio para estas bacterias “La reacción al rojo de metilo es positiva, y las pruebas de Voges-Proskauer e indol son negativas”, lo que representa un importante punto de apoyo para la identificación en las consiguientes pruebas a realizarse en la presente tesis.

### **2.3.2 Taxonomía.**

Si bien con el pasar de los años la caracterización taxonómica de la *Salmonella* ha variado, es preciso mencionar que existen aproximadamente 2200 tipos serológicos diferentes (Cameán & Repetto, 2012), para una mejor comprensión es necesario una precisa identificación taxonómica como la mostrada en la **tabla #4**:

**Tabla 4: Taxonomía del bacillo *Salmonella*.**

---

<b>Reino:</b>	<i>Bacteria</i>
<b>Filo:</b>	<i>Proteobacteria</i>
<b>Clase:</b>	<i>Gammaproteobacteria</i>
<b>Orden:</b>	<i>Enterobacteriales</i>
<b>Familia:</b>	<i>Enterobacteriaceae</i>
<b>Género:</b>	<i>Salmonella</i>
<b>Especie:</b>	<i>S. bongori</i> <i>S. terra</i> <i>S. entérica</i>
<b>Subespecies:</b>	<i>S. entérica</i>
<b>(<i>S. entérica</i>)</b>	<i>S. salamae</i> <i>S. arizonae</i> <i>S. diarizonae</i> <i>S. houtenae</i> <i>S. indica</i>

---

**Fuentes:** (Teixidó Devesa, 2013); (Cameán, Mellado, & Repetto, Contaminantes biológicos, 2012)

### **2.3.3 *Salmonella entérica.***

Representa la especie de mayor importancia para el hombre, dada su naturaleza de organismo patógeno, causa la fiebre *Salmonella* (fiebre tifoidea o paratifoidea).

## **2.4 Regularización de la producción de queso fresco.**

### **2.4.1 Codex alimentarius.**

El IICA (Instituto interamericano de cooperación para la agricultura, 2009) define al Codex Alimentarius como un programa conjunto, creado por la ONU (Organización de las Naciones Unidas) de cooperación entre la FAO (Food and Agriculture Organization) y la OMS (Organización mundial de la salud) para el desarrollo de normas alimentarias que posteriormente serán incluidas en el cuerpo de la normativa general para entrar en vigencia.

El Codex Alimentarius como organización está compuesto de distintos comités, cada uno encargado de un aspecto específico de la seguridad alimentaria, dando un total de 339 registros (FAO; OMS, 2013); dentro de ellos y los estándares de mayor relevancia para la presente investigación son:

#### **2.4.1.1 Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos.**

Representa el ámbito legal más generalizado del Codex alimentarius para la manipulación y procesamiento de productos lácteos y sus derivados, teniendo en cuenta de que aquí se enfocan la normativa partiendo de la leche como producto primario. Parafraseando a lo incluido dentro de ésta sección del Codex (FAO; OMS, 2009), se pueden describir los siguientes principios básicos:

- El nivel de contaminación mínimo de un producto lácteo al momento de ser presentado al consumidor.
- La contaminación por leche cruda al momento de la manipulación y elaboración de productos lácteos.
- La carga microbiana en productos lácteos.
- La higiene de los encargados de la manipulación de leche y sus derivados.
- El cuidado de los animales productores de leche a fin de garantizar un buen producto.

#### **2.4.1.2 Norma general del Codex para el queso.**

El queso fresco, según lo aquí establecido, debe estar correctamente etiquetado y cumplir con lo establecido en la sección de Aditivos Alimentarios (FAO; OMS, 2013).

#### **2.4.1.3 Norma de grupo del Codex para queso no madurado, incluido el queso fresco.**

En ésta sección se incluye además de los mismos requisitos de la “Norma general del *Codex Alimentarius* para el queso” la necesidad de una buena higiene para la elaboración de los quesos (FAO; OMS, 2013).

Por tanto y a razón de lo anteriormente descrito, la finalidad del Codex es ser una guía para la elaboración de normativas internas y privadas, además de favorecer al comercio internacional al resultar un estándar a nivel mundial.

IICA (Instituto interamericano de cooperación para la agricultura, 2009) también señala que “Las normas y textos afines del Codex Alimentarius no sustituyen ni son una solución alternativa a la legislación nacional... cada país debe legislar internamente sobre las cuestiones abordadas en el Codex”, lo cual es cumplido a cabalidad al observar en cada país su marco legal alimenticio.

#### **2.4.2 Instituto ecuatoriano de la normalización (INEN).**

El Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), es una entidad pública, dependiente del Gobierno Ecuatoriano, cuya misión, se describe en el website oficial de la siguiente manera:

“Organismo técnico nacional, eje principal del Sistema Ecuatoriano de la Calidad en el país, competente en Normalización, Reglamentación Técnica y Metrología, que contribuye a garantizar el cumplimiento de los derechos ciudadanos relacionados con la seguridad; la protección de la vida y la salud humana, animal y vegetal; la preservación del medio ambiente; la protección del consumidor y la promoción de la cultura de la

calidad y el mejoramiento de la productividad y competitividad en la sociedad ecuatoriana.” (Instituto Ecuatoriano de Normalización).

Por tanto se reconoce así al INEN como el instituto rector de la regularización cualitativa interna para la oferta de bienes y servicios a nivel del Ecuador.

#### **2.4.2.1 NTE INEN 1528 (2012) (Norma general para quesos frescos no madurados).**

En la presente tesis, resalta para el propósito de la investigación, el análisis de ésta normativa en particular, pues aquí se describe con precisión los requisitos mínimos para la elaboración de quesos frescos, indistintamente de su modo de elaboración.

Dentro del apartado 2.2.1 de ésta tesis se describe la definición formal que el Instituto Ecuatoriano de Normalización, sin embargo la zonificación para el enfoque investigativo (Cantón Chone, provincia de Manabí) permite ahondar aun más, dado que nos encontramos dentro del centro de origen del denominado “queso manaba” al cual el INEN define de la siguiente manera:

“Es el queso no madurado obtenido a partir de leche, acidificado de forma natural en presencia de bacterias mesófilas nativas de la zona manabita, salado con sal en grano y colocado en moldes sin fondo para su prensado.” (INEN, 2012)

Tener presente esta conceptualización, específica para el queso fresco de la zona, permite hacernos una idea más acertada de sus características, sin embargo existen disposiciones y requisitos que se debe cumplir de acuerdo al INEN para la fabricación de los mismos, donde al parafrasear los incisos 4 y 5 de la NTE INEN 1528 se resume lo siguiente:

- El procesamiento del queso deberá hacerse con leche que cumpla con la Norma Técnica INEN 0010 (NTE INEN 0010) o Requisitos para leche pasteurizada (Véase sección 2.4.2.1).
- De acuerdo a la normativa ecuatoriana se debe cumplir los siguientes requisitos en base a la humedad y contenido de grasa para el queso fresco:

**Tabla 5: Requisitos de humedad y grasa para el queso fresco.**

<b>Tipo de queso fresco</b>	<b>Humedad % max.</b>	<b>Grasa contenida en extracto seco, % m/m mínimo</b>
Semiduro	55	-
Duro	40	-
Semiblando	65	-
Blando	80	-
Rico en grasa	-	60
Entero o graso	-	45
Semidescremado o bajo en grasa	-	20
Descremado o magro	-	0,1

**Fuente:** (INEN, 2012)

- Además, las condiciones microbiológicas del producto final son sumamente importantes por lo que se detalla en la normativa las siguientes especificaciones:

**Tabla 6: Requisitos microbiológicos para el queso fresco.**

<b>Requisito</b>	<b>n</b>	<b>M</b>	<b>M</b>	<b>C</b>	<b>Método de ensayo</b>
Enterobacterias, UFC/g	5	$2 \times 10^2$	$10^3$	1	NTE INEN 1529-13
Escherichia coli, UFC/g	5	<10	10	1	NTE INEN 1529-13
Staphylococcus aureus UFC/g	5	10	$10^2$	1	NTE INEN 1529-14
<i>Listeria monocytogenes</i> /25 g	5	Ausencia	-		ISO 11290-1
<i>Salmonella</i> en 25 g	5	Ausencia	-	0	NTE INEN 1529-15

**Donde:**

n = Número de muestras a examinar.

m = Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad.

M = Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad.

c = Número de muestras permisibles con resultados entre m y M.

**Fuente:** (INEN, 2012)

- En referencia a los aditivos, solo se podrá utilizar los aditivos especificados en la norma NTE INEN 2074, además de gelatinas, almidones modificados, harinas y almidones de arroz, maíz y papa.
- Por último el nivel de contaminantes debe ser el máximo permitido en el CODEX STAN 193-1995.

#### **2.4.2.2 NTE INEN 1529-15 (1996) (Control microbiológico de los alimentos. *Salmonella*, método de detección).**

Esta sección de la normativa INEN pretende únicamente determinar la presencia o ausencia de *Salmonella* en los alimentos, pues no existen especificaciones de cepas que se busquen y simplemente es realizado el correspondiente análisis para efectos de calificación y permisibilidad de alimentos.

La metodología específica de la NTE INEN 1529-15 (1996) será detallada en el siguiente capítulo (Marco Operacional).

## 3 MARCO OPERACIONAL

### 3.1 Ubicación del ensayo.

La totalidad del ensayo se encuentra distribuida en dos sedes, una de campo y la de laboratorio, ubicadas de la siguiente manera:

- **Sede de campo:** Ubicada en el cantón Chone, provincia de Manabí, donde se colectarán las muestras de queso fresco de acuerdo a lo planteado en el diseño experimental.
- **Sede de laboratorio:** Ubicada en la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, lugar donde se realizarán los análisis microbiológicos respectivos para establecer la presencia o no de *Salmonella* en las muestras de queso tomadas en el cantón Chone.
- **Marco temporal:** El presente estudio fue realizado ente los meses de Mayo y Julio del 2014.

### 3.2 Materiales.

- **Cristalería:** Tubos de ensayo, pipetas y vaso de precipitación.
- **Equipos de laboratorio:** Autoclave, balanza de precisión, contador de colonias, destilador de agua, cámara de seguridad biológica, hornilla eléctrica de laboratorio.
- **Instrumentos de laboratorio:** Asas de siembra, gradillas.
- **Insumos:** Algodón esterilizado, agua de peptona, agar SS (*Salmonella Shigella*), caldo de tetrionato además hielera para el transporte del queso fresco muestreado.

### 3.3 Diseño experimental.

Dada la naturaleza del trabajo que se realiza y el hecho recurrente de que el trabajo aquí realizado no cuenta con precedente alguno, además de la limitada cantidad de vendedores primarios de queso fresco ubicados en el cantón Chone; por consiguiente el plan de muestreo abarcó a la población total productores de queso fresco del cantón Chone sin que esto requiriera tampoco una estratificación:



**Tabla 7: Productores de queso fresco en el cantón Chone.**

UBICACIÓN	SECTOR	PRODUCTORES	
<b>Norte</b>	Agua blanca	Iter Mendoza	1
	Colorado	Dr. Hugo Champang Bazurto	2
		Manuel Zambrano	3
	Limón	Silvio Vega	4
		Pavón	Glen Moreira
	Ricaurte SESME	Dr. Bolívar Andrade	6
		Gabriel Ocampo	7
		José Luis Pino	8
		Silvio Alcívar	9
		Franck Moreira	10
		Jenny Moreira	11
		Isaac Zambrano	12
		Narciso Conforme	13
		Trino Cedeño	14
		Vilma Moreira	15
	Las Hierbas	Jonny Zambrano	16
		Dr. Tobías Zambrano	17
	Zapallo	Nelly Zambrano	18
<b>Sur</b>	Canuto	Yamil Vera	19
		Hugo Alcívar	20
		Miguel Arteaga	21
	San Antonio	Víctor Zambrano	22
		Freddy Intriago	23
	<b>Este</b>	Eloy Alfaro	Tranquilino Acosta Accina
José Arteaga Orellana			25
Juan Gabriel Moreira Arteaga			26
Vía San Vicente		Vicente Andrade	27
<b>Oeste</b>		Chamiza	Alejandro Cevallos Arteaga
	Luis Montes Cevallos		29
	Lenin Octavio Rodríguez Dueñas		30
	Convento	Didio Rosado	31
		Río Grande	Jimmy Muñoz
	Rancho Viejo	Alfredo Enrique Cedeño Cedeño	33
		José Cristóbal Cedeño	34
		Teófilo José Díaz Mendoza	35

**Fuente:** Mario Zambrano M.

En virtud de los objetivos buscados en ésta tesis se observa una clara variable que puede ser evaluada mediante la experimentación:

- La presencia de *Salmonella* y el conteo de UFC por cada muestra evaluada.

Es sin embargo necesario recalcar que en el presente trabajo se buscó evaluar la influencia de tecnificación de las instalaciones en la presencia de *Salmonella* en el queso fresco, tomando en cuenta aquello resultó necesario identificar la población de productores queseros tecnificados y no tecnificados, lo que se cumplió de la siguiente manera:

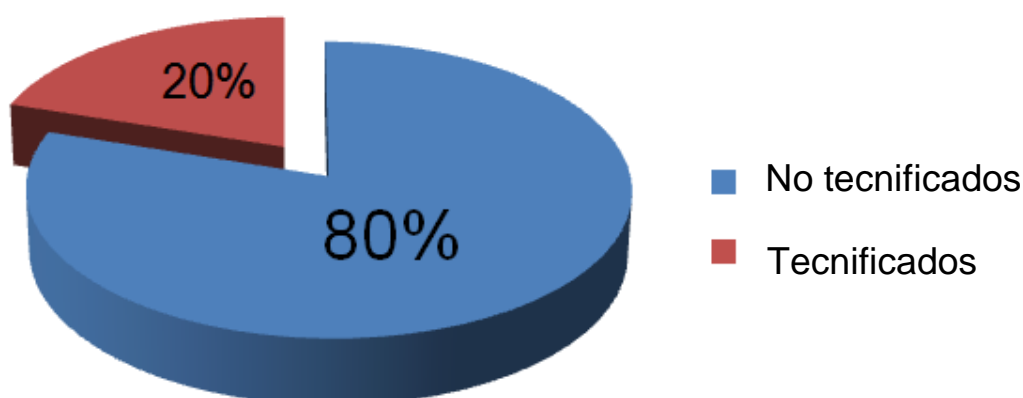
**Tabla 8: Productores de queso fresco en el cantón Chone.**

<b>UBICACIÓN</b>	<b>PRODUCTORES</b>	<b>Nº</b>	<b>TECNIFICACIÓN</b>
<b>Norte</b>	Iter Mendoza	1	No
	Dr. Hugo Champang Bazurto	2	No
	Manuel Zambrano	3	No
	Silvio Vega	4	No
	Glen Moreira	5	No
	Dr. Bolívar Andrade	6	No
	Gabriel Ocampo	7	Si
	José Luis Pino	8	Si
	Silvio Alcívar	9	No
	Franck Moreira	10	No
	Jenny Moreira	11	No
	Isaac Zambrano	12	No
	Narciso Conforme	13	No
	Trino Cedeño	14	Si
	Vilma Moreira	15	No
	Jonny Zambrano	16	No
	Dr. Tobías Zambrano	17	Si
	Nelly Zambrano	18	No
<b>Sur</b>	Yamil Vera	19	No
	Hugo Alcívar	20	Si
	Miguel Arteaga	21	No
	Víctor Zambrano	22	No
	Freddy Intriago	23	No
<b>Este</b>	Tranquilino Acosta Accina	24	No
	José Arteaga Orellana	25	No
	Juan Gabriel Moreira Arteaga	26	Si
	Vicente Andrade	27	Si
<b>Oeste</b>	Alejandro Cevallos Arteaga	28	No
	Luis Montes Cevallos	29	No
	Lenin Octavio Rodríguez Dueñas	30	No
	Didio Rosado	31	No
	Jimmy Muñoz	32	No
	Alfredo Enrique Cedeño Cedeño	33	No
	José Cristóbal Cedeño	34	No
	Teófilo José Díaz Mendoza	35	No
<b>Total de tecnificados: 7</b>		<b>Total de no tecnificados: 28</b>	

**Fuente:** Mario Zambrano M.

Llevando lo anteriormente planteado a un análisis más general se tiene que porcentualmente se tiene distribuido a los productores de queso de la siguiente manera:

**Gráfico 1: Resultados porcentual y total de cajas Petri con *Salmonella* en muestras obtenidas de productores primarios**



**Fuente:** Mario Zambrano M.

Por lo anteriormente presentado consideremos un factor importante: Los productores de queso no tecnificados representan mayoría porcentual en relación a la proporción lo que puede representar un factor influyente al obtener los resultados.

### **3.4 Metodología.**

#### **3.4.1 Consideraciones técnicas usadas para la toma de muestras.**

Se tomó las medidas adecuadas para prevenir cualquier contaminación tanto del envío como de las unidades de muestreo (por ejemplo, lavado y desinfección de manos antes de manipular el material a muestrearse, uso de delantal u overol blanco y limpio, además de mascarilla y gorro, posterior a ello se selló y etiquetó cada muestra de manera que sea imposible remover el contenido o la etiqueta sin destruir el sello.

- Escribir la información con tinta indeleble indicando:
- La naturaleza del producto.

- El número y código del lote (necesario para muestras de gran tamaño).
- La fecha de la toma de muestras.
- El nombre y la firma de quién tomó las muestras.
- Cuando sea necesario:
  - Propósito de la toma de muestras.
  - La masa o volumen de la muestra.

### 3.4.2 Plan de muestreo.

De acuerdo a lo obtenido en la **tabla 7**, al tener 35 productores de queso fresco en el Cantón Chone y acorde a la metodología especificada por la NTE INEN 1529-2 (1999), el plan de muestreo se desarrolló de la siguiente manera:

**Tabla 9:** Plan de muestreo de queso fresco.

Semana	Sector	Productor								
1	Norte	1	2	3	4	5	6	7	8	9
2	Norte	10	11	12	13	14	15	16	17	18
3	Sur – Este	19	20	21	22	23	24	25	26	27
4	Oeste	28	29	30	31	32	33	34	35	36

**Fuente:** Mario Zambrano M.

### 3.4.3 Toma de muestras de queso fresco.

- Las muestras se tomaron en condiciones asépticas, con rapidez pero cuidadosamente, y de tal manera, para que la muestra sea representativa del producto que se quiere analizar.
- Antes de abrir un envase se limpió la zona apropiada con agua tibia y jabón, además se pasó alcohol al 70%.
- Al abrir un envase se usó instrumentos estériles.
- Para conservar estas muestras no se utilizaron preservantes.

- Se tomó la temperatura del queso fresco muestreado además de la del lugar de almacenamiento.

Para muestrear quesos pequeños tomó como muestra un queso completo de tal manera que la muestra no sea inferior de 100 g., una vez tomadas todas las muestras se conservaron en condiciones idénticas a las que tenían en el momento de la toma y posteriormente fueron enviadas al laboratorio para su análisis.

#### **3.4.4 Envío de las muestras al laboratorio.**

Enviar las muestras al laboratorio lo más rápido posible y en condiciones que reduzcan al mínimo la posibilidad de cambio de su calidad microbiológica y evitar que durante el transporte las muestras sean expuestas a la luz solar directa, se debe manipular y empacar las muestras de modo que una manipulación posterior no pueda cambiar su identidad ni sugerir ninguna duda acerca de su identidad y siempre que sea posible, se deben enviar las muestras al laboratorio en su envase original, sin abrir. Todas las muestras envasadas, para su envío deben empacarse con materiales que puedan absorber los golpes para evitar que sufran daños durante el transporte.

### **3.5 Metodología para procesar muestras en laboratorio.**

Una vez reunidas las muestras y preservadas cuidadosamente en la hielera, se procedió con el muestreo, apegándose lo mayor posible a lo planteado por la NTE INEN 1529-15 INEN (1996), el cual especifica que la *Salmonella* presente en los alimentos está “en pequeños números, algunas veces debilitadas y frecuentemente acompañadas de un gran número de otros miembros de *Enterobacteriaceae*”, hizo que se requiera del seguimiento de un protocolo con las siguientes etapas:

- **Enriquecimiento selectivo:** Impide el crecimiento de microorganismos competidores con la *Salmonella*; el subcultivo se realiza dentro de un medio líquido a una temperatura entre 37°C-43°C.

- **Siembra en placa de medios selectivos y sólidos:** Permite el crecimiento e identificación de las posibles colonias de *Salmonella*, utiliza medios selectivos y diferenciales de crecimiento
- **Identificación:** Aquí ya se identificó a las colonias de *Salmonella* y se realizó el conteo.

Como punto importante es necesario mencionar que el pre-enriquecimiento no es necesario en el caso del queso fresco, pues éste es solo necesario para los alimentos que han recibido tratamiento para la conservación.

Los medios de cultivo para utilizar en la identificación se *Salmonella* utilizados para el presente estudio y que están detallados en la normativa INEN constan en el literal 3.2 (materiales, inciso de insumos).

A más de ello es imprescindible que se cuente con instrumental de laboratorio (cristalería y herramientas) esterilizadas además del correspondiente equipo para realizar dicha labor (autoclaves). Para esto es necesario que las cajas Petri y demás instrumental esté debidamente esterilizado y el medio de cultivo haya sido preparado de acuerdo a las indicaciones del fabricante; además de ello se realizó una esterilización en el autoclave a 121°C, durante 20 minutos y a 15 libras de presión; finalmente deben ser colocado en las cajas Petri y dejados solidificar en una refrigeradora que se encuentre en condiciones asépticas.

En la toma de la muestra es necesario que la llegada de los quesos al laboratorio no tenga más allá de 24 horas de haber sido realizada y luego del cual haya sido conservado en una temperatura de 2°C-5°C. Ya en el laboratorio se para el tratamiento de las muestras de queso se procedió mediante el siguiente protocolo:

- Se pesó 10 g de queso fresco muestreado y se licuó junto a 90 ml de agua de peptona; al resultado de ésta mezcla se lo denominó (-1).
- Posterior a ello se tomó 1 ml de la mezcla homogenizada usando una pipeta y se lo colocó dentro de un tubo de ensayo que contenga 9 ml de agua de peptona, posterior a esto se procedió a agitar para homogenizar. A este tubo de ensayo se lo denominó (-2) por ser la primera dilución que parte de la mezcla homogenizada (-1).

- De la anterior dilución homogenizada se tomó nuevamente 1 ml y se lo añadió en un nuevo tubo de ensayo con otros 9 ml de agua de peptona y una vez más se procedió a agitar para homogenizar, luego a éste nuevo tubo se denominó (-3) por ser una segunda dilución originada en la mezcla homogénea (-1).
- Partiendo de lo anteriormente explicado se hizo dos diluciones más, denominadas (-4) y (-5) respectivamente.
- Considerado el hecho fundamental de que cada dilución representará de manera proporcional la cantidad real de UFC a medida de que avanzan consecutivamente, para lo concerniente a este trabajo de investigación se utilizó en las cajas Petri las diluciones (-3) y (-4).
- Teniendo en cuenta las diluciones a utilizar se procedió con el enriquecimiento utilizando para ello el caldo de tetratationato.
- Luego de esto se realizó el rayado en las cajas Petri usando los tubos de ensayo enriquecidos; esto me dio finalmente una proporcionalidad de 2 cajas Petri por cada muestra de queso; se obtuvieron 350 cajas Petri, teniendo en cuenta el hecho fundamental de que se realizaron 5 repeticiones (según lo establece el INEN).
- Transcurridas las 24 horas observaron las unidades formadoras de colonias lo cual dio paso al conteo de las mismas, se requiere de mucha experiencia, además es posible que hayan múltiples variaciones de aspecto que dependerá de la especie de *Salmonella* o incluso del lote del que proviene la misma, según los medios de cultivo, el INEN explica el aspecto aproximado de las colonias de la siguiente manera:

**Agar *Salmonella-Shigella*.** La mayoría de las colonias típicas de *Salmonella* son opacas o translúcidas, incoloras o de color crema, con o sin centro negro. La poca *Salmonella* que fermenta la lactosa presenta colonias lisas de color rosa o naranja.

Con mayor detalle y de un modo simplificado, todo lo anterior se explica en el anexo 13.

### 3.6 Resultados y discusión.

Concluido el periodo de espera para la identificación de las colonias de *Salmonella* procedentes de queso fresco, se obtuvo lo siguiente:

**Tabla 10: Resultados de la identificación de UFC de *Salmonella***

<b>M</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>
<b>R1</b>	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
<b>R2</b>	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
<b>R3</b>	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
<b>R4</b>	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
<b>R5</b>	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
<b>M</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>24</b>	<b>25</b>	<b>26</b>	<b>27</b>	<b>28</b>	<b>29</b>	<b>30</b>	<b>31</b>	<b>32</b>	<b>33</b>	<b>34</b>	<b>35</b>	
<b>R1</b>	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
<b>R2</b>	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
<b>R3</b>	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
<b>R4</b>	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
<b>R5</b>	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	

Entiéndase en la tabla que: M=Muestra y R=Resultado; además, en lo concerniente a los resultados, el signo positivo implicará presencia de *Salmonella* en la muestra de queso, mientras por el contrario el signo negativo será un claro indicio de la ausencia del mismo microorganismo.

Observando la anterior tabla, grosso modo podemos apreciar que del total de productores que constan en la **Tabla 7**, de un total de 35, existen 28 que arrojan un resultado positivo a presencia de *Salmonella*, mientras que solo 7 presentaron muestras no contaminadas por el microorganismo. Llevando el análisis más profundamente al tomar en consideración el número de UFC (Unidades formadoras de colonias) se obtuvo lo siguiente:



**Tabla 11:** Resultado de UFC de *Salmonella* en la dilución ( $10^{-3}$ )

<b>M</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>
<b>R1</b>	141	191	161	229	133	144	0	0	216	51	106	39
<b>R2</b>	200	151	158	204	134	200	0	0	205	89	199	76
<b>R3</b>	113	519	165	117	127	116	0	0	77	151	391	69
<b>R4</b>	273	104	148	154	127	58	0	0	137	94	132	61
<b>R5</b>	184	100	109	101	94	103	0	0	94	88	108	107
<b>M</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>24</b>
<b>R1</b>	134	0	190	123	0	328	117	0	140	145	124	124
<b>R2</b>	194	0	122	117	0	134	140	0	140	90	164	140
<b>R3</b>	188	0	123	118	0	134	139	0	128	129	129	129
<b>R4</b>	194	0	134	138	0	124	146	0	134	140	139	134
<b>R5</b>	220	0	106	144	0	139	150	0	139	129	150	142
<b>M</b>	<b>25</b>	<b>26</b>	<b>27</b>	<b>28</b>	<b>29</b>	<b>30</b>	<b>31</b>	<b>32</b>	<b>33</b>	<b>34</b>	<b>35</b>	
<b>R1</b>	124	0	0	139	123	143	216	136	161	139	129	
<b>R2</b>	124	0	0	138	140	135	239	133	139	138	134	
<b>R3</b>	82	0	0	139	150	165	244	155	153	132	145	
<b>R4</b>	150	0	0	140	141	146	133	134	144	144	134	
<b>R5</b>	139	0	0	129	123	188	140	124	137	119	151	

Considerando lo obtenido en los resultados de la Tabla 10 podemos realizar un análisis estadístico mediante el uso del diagrama de Diferencia significativa de la T de Tukey (DSH), aplicado solamente a los productores no tecnificados, cuyas muestras dieron positivo para presencia del *Salmonella*, partiendo de ello obtuvimos:

**Tabla 12:** Análisis de varianza de UFC de *Salmonella*.

<b>Variable</b>	<b>Número</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>Aj</b>	<b>CV</b>
<b><i>Salmonella</i></b>	139	0,40	0,25	17,76

**Tabla 13:** Análisis de varianza de UFC de *Salmonella*.

<b>Cuadro de análisis de la varianza (SC tipo III)</b>						
<b>FV</b>	<b>Sc</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>F cal.</b>	<b>F tab.</b>	<b>P -valor</b>
<b>Modelo</b>	46278,82	27	1714,03	2,75	0,05 = 1,63	0,0001
<b>Tratamiento</b>	46278,82	27	1714,03	2,75	0,05 = 1,63	0,0001
<b>Error</b>	69280,35	111	624,15			
<b>Total</b>	115559,17	138				

Para el presente cuadro de Tukey se estableció que los grados de Libertad o GL son 111 y el error considerado esta en 624,147.

Para esto los tratamientos establecidos ordenados son iguales a las muestras tomadas de cada finca productora de quesos en el cantón Chone; para ello tenemos en cuenta lo siguiente:

- Los resultados negativos fueron obviados por su valor, pues la norma INEN establece que el conteo de *Salmonella* debe ser 0 según lo que se indica en el la parte de análisis teórico.

Finalmente en un análisis más extenso tendremos lo siguiente:

**Tabla 14: Ordenamiento y datos estadísticos de las UFC contadas en las muestras obtenidas  $10^{-3}$ .**

Tratamiento	Media	Nº de muestras	Error	Variabilidad		
13	122,40	5	11,17	A		
12	122,60	5	11,17	A		
19	123	5	11,17	A		
28	124,25	5	11,49	A		
20	124,20	5	11,17	A		
27	132,40	5	11,17	A	B	
22	134,20	5	11,17	A	B	
22	135,00	5	11,17	A	B	
5	135,80	5	11,17	A	B	
15	136,80	5	11,17	A	B	
21	136,80	5	11,17	A	B	
26	139,80	5	11,17	A	B	
11	149,00	5	11,17	A	B	
25	140,40	5	11,17	A	B	
16	141,40	5	11,17	A	B	C
18	143,20	5	11,17	A	B	C
17	140,40	5	11,17	A	B	C
6	143,60	5	11,17	A	B	C
1	147,20	5	11,17	A	B	C
2	148,40	5	11,17	A	B	C
14	149,00	5	11,17	A	B	C
23	150,60	5	11,17	A	B	C
9	141,60	5	11,17	A	B	C
3	151,00	5	11,17	A	B	C
10	163,80	5	11,17	A	B	C
8	166,20	5	11,17	A	B	C
4	166,40	5	11,17	A	B	C
24	187,80	5	11,17		B	C
7	200,60	5	11,17			C

**Fuente:** Mario Zambrano Macay

Finalmente con lo obtenido en el análisis estadístico, el promedio señalado con una misma letra no difiere estadísticamente entre sí de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Tukey al 5% de probabilidad. Consideremos para esto entonces lo mostrado en el gráfico 1, donde se analiza que existe un 80% de productores no tecnificados de diferencia frente a los tecnificados, se consideró entonces que por esto existe una influencia demostrada de la tecnificación en los resultados obtenidos en cuanto a la presencia de *Salmonella* y el conteo de la misma.

Por cuanto  $F_{cal}$  (F) es igual a 2,75, que es mayor a  $F_{tabular}$  (0,05)=1,63, se deduce por tanto una diferencia altamente significativa entre las medias del conteo del número de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Salmonella*. Por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y por consiguiente se acepta la alternativa con un 95% de certeza y un 5% de error.

## 4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 4.1 Conclusiones:

- Resultado del plan de muestreo derivó al aislamiento de 175 cajas Petri, provenientes de 35 muestras de queso fresco que arrojaron que el 80% o 140 de las cajas Petri dan positivo en lo que respecta a la contaminación por *Salmonella*, resultando coincidente con el número de muestras obtenidas de instalaciones no tecnificadas.
- Existió un conteo elevado de muestras de *Salmonella* en los resultados de las muestras positivas expresadas en la tabla: Conteo ( $10^{-3}$ ) de *Salmonella*.
- Analizando lo anterior en función de la lo que establece la NTE INEN 1528 (2012) se tiene que 35 productores (80%) no cumplen en absoluto la normativa, pues se menciona que debe haber ausencia total de UFC en cada muestra de queso fresco.

## 4.2 Recomendaciones:

- La elevada cantidad de UFC's de *Salmonella* sugiere un total descuido en la conservación y el manejo, por lo que se sugiere tener en cuenta la enorme importancia que representa la cadena de frío e higiene para la elaboración de alimentos perecibles.
- El incumplimiento de los requisitos microbiológicos de la NTE INEN 1528 (2012) delata falta de asepsia tanto en el proceso como en la materia prima para elaborar queso fresco por lo que se sugieren profundas mejoras en instalaciones y métodos de elaboración.
- Finalmente a fin de fortalecer el sector lechero y beneficiar a los consumidores bien sería interesante un mecanismo de compensación económica para los productores de leche y queso que presenten buena calidad de productos.
- Se recomienda identificar serotipos a fin de obtener datos más profundos sobre la afectación que ejerce la contaminación de *Salmonella* en la población de Chone.
- Se sugiere un mayor control sanitario en las instalaciones de procesamiento de derivados lácteos.

## 5 BIBLIOGRAFÍA

1. Cameán, A. M., & Repetto, M. (2012). La salmonelosis. En A. M. Cameán, & R. Manuel, *Toxicología alimentaria* (pág. 260). Madrid: Díaz de Santos.
2. Cameán, A. M., Mellado, E., & Repetto, M. (2012). En A. M. Cameán, & M. Repetto, *Contaminantes biológicos* (pág. 260). Madrid: Díaz de Santos.
3. FAO; OMS. (2009). Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos. En *Codex Alimentarius*. USA: ONU.
4. FAO; OMS. (2013). *Codex Alimentarius*. Roma: ONU.
5. FAO; OMS. (2013). Norma general del codex para el queso. En *Codex Alimentarius*. USA: ONU.
6. García, N. B., & Requelme, N. d. (2011). Buenas prácticas de ordeño y calidad higiénica de la leche en el Ecuador. *La granja*, 46.
7. Gil, Á. (2010). En Á. Gil Hernández, & M. D. Ruiz Lopez, *Tratado de Nutrición* (2º ed., pág. 21). Madrid: Panamericana.
8. INEN. (1996). *Instituto Ecuatoriano de Normalización*. Obtenido de <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.0004.1984.pdf>
9. INEN. (octubre de 2012). *INEN*. Obtenido de <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.0010.2012.pdf>
10. INEN. (abril de 2012). *Instituto Ecuatoriano de Normalización*. Recuperado el 07 de junio de 2014, de <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.2620.2012.pdf>
11. Instituto Ecuatoriano de Normalización. (s.f.). *INEN*. Recuperado el 14 de junio de 2014, de Instituto Ecuatoriano de Normalización: <http://www.normalizacion.gob.ec/mision-vision/>
12. Instituto interamericano de cooperación para la agricultura. (2009). Descripción de la organización. En IICA, *Manual de buenas prácticas de participación en reuniones Codex Alimentarius* (pág. 5). San José: Ricardo Molins.
13. MAGAP. (14 de diciembre de 2012). *Sistema de Información Nacional de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca*. Recuperado el 31 de mayo de 2014, de <http://sinagap.agricultura.gob.ec/index.php/resultados-provinciales/file/492-49-produccion-de-leche-huevos-y-venta-de-lana-segun-tamanos-de-upa?start=40>

14. MAGAP. (26 de noviembre de 2012). *Sistema de Información Nacional de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca*. Recuperado el 31 de mayo de 2014, de <http://sinagap.agricultura.gob.ec/index.php/resultados-provinciales/file/365-49-produccion-de-leche-huevos-y-venta-de-lana-segun-tamanos-de-upa?start=40>
15. MAGAP. (23 de noviembre de 2012). *Sistema de Información Nacional de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca*. Recuperado el 31 de mayo de 2014, de <http://sinagap.agricultura.gob.ec/index.php/resultados-nacionales/file/291-49-huevos-leche-y-lana-produccion-y-venta?start=40>
16. MAGAP. (14 de febrero de 2013). *Sistema de Información Nacional de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca*. Recuperado el 31 de mayo de 2014, de <http://sinagap.agricultura.gob.ec/index.php/resultados-provinciales/file/2109-guayas-t49?start=20>
17. MAGAP. (01 de abril de 2013). *Sistema de Información Nacional de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca*. Recuperado el 31 de mayo de 2014, de <http://sinagap.agricultura.gob.ec/index.php/resultados-provinciales/file/2594-imbabura-t49?start=20>
18. MAGAP. (02 de enero de 2013). *Sistema de Información Nacional de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca*. Recuperado el 31 de mayo de 2014, de <http://sinagap.agricultura.gob.ec/index.php/resultados-provinciales/file/683-49-produccion-de-leche-huevos-y-venta-de-lana-segun-tamanos-de-upa?start=20>
19. MAGAP. (14 de febrero de 2013). *Sistema de Información Nacional de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca*. Recuperado el 31 de mayo de 2014, de <http://sinagap.agricultura.gob.ec/index.php/resultados-provinciales/file/2224-manabi-t31?start=40>
20. MIPRO. (julio de 2011). *Ministerio de Coordinación de la Producción, Empleo y Competitividad*. Recuperado el 6 de junio de 2014, de <http://www.produccion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/02/AGENDA-TERRITORIAL-MANABI.pdf>

21. Moreano Santos, A. L. (2009). *Dspace*. Recuperado el 08 de junio de 2014, de <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/11388/3/tesis.pdf>
22. Pereira Sanandres, N., González Pedraza, J., Soto Varela, Z., Hernández Aguirre, E., & Villarreal Camacho, J. (2014). Aislamiento microbiológico de *Salmonella* spp. y herramientas moleculares para su detección. *Universidad del Norte, Revista Científica Salud Uninorte*; Vol 30, No 1 (2014): Enero - Abril.
23. Sánchez Rodríguez, J. A., Serrano Jiménez, S., Marfil Navarro, R., & Jodral Villarejo, M. (2011). *Salmonella* spp. En J. A. Sánchez Rodríguez, S. Serrano Jiménez, R. Marfil Navarro, & M. Jodral Villarejo, *Patógenos emergentes en la línea de sacrificio del porcino* (pág. 55). Madrid: Díaz de Santos.
24. Teixidó Devesa, L. (30 de mayo de 2013). *Estudio del regulón Fur en Salmonella enterica serovar Typhimurium*. Bellaterra, Cataluña, España: Departamento de genética y microbiología. Recuperado el 9 de junio de 2013, de <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/117269/ltd1de1.pdf?sequence=1>
25. USDA. (2012). *Agricultural Research Service*. Obtenido de United States Department of Agriculture: <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/197?qlookup=01229&max=25&man=&facet=&new=1>

## 6 ANEXOS

Anexo #1

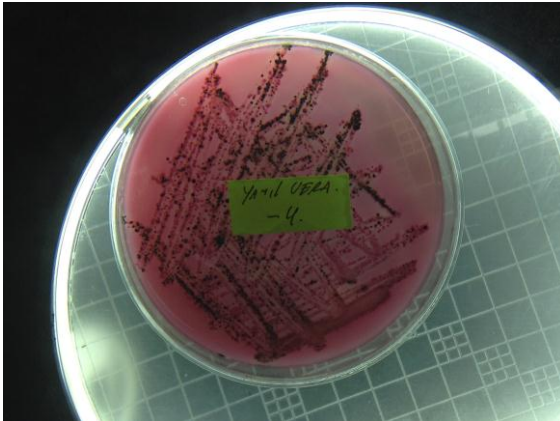


Anexo #2



Preparación de cajas Petri y tubos de ensayo previo a la inoculación.

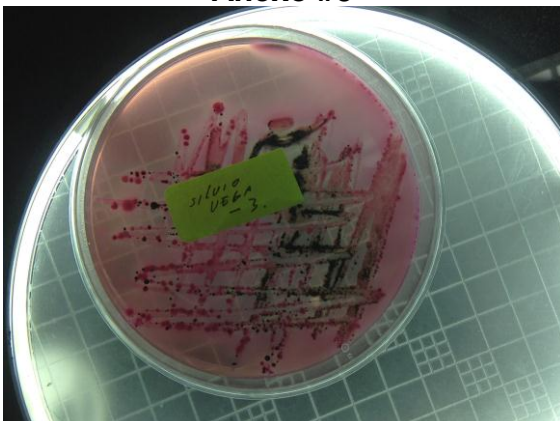
Anexo #3



Anexo #4



Anexo #5



Anexo #6



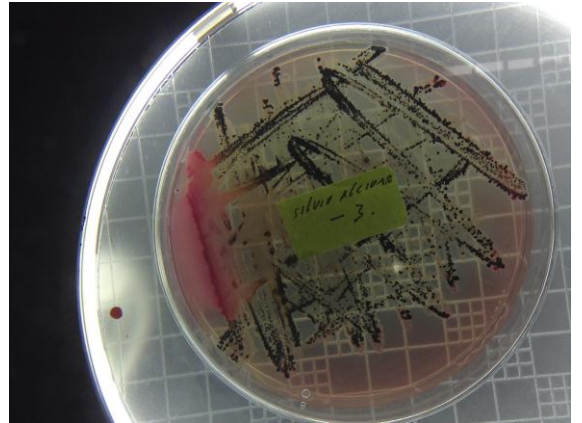
Cajas Petri positivas para *Salmonella*.



**Anexo #7**



**Anexo #8**

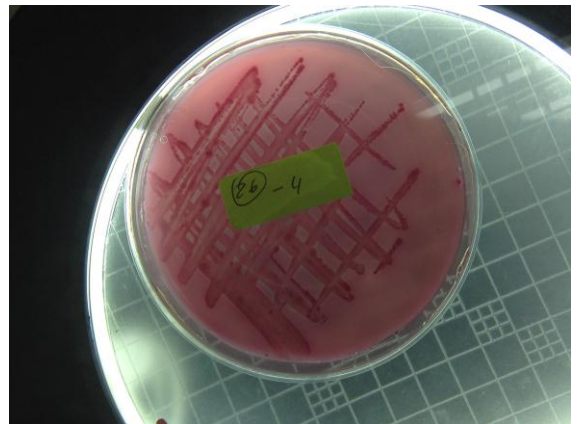


Cajas Petri positivas para *Salmonella*.

**Anexo #9**

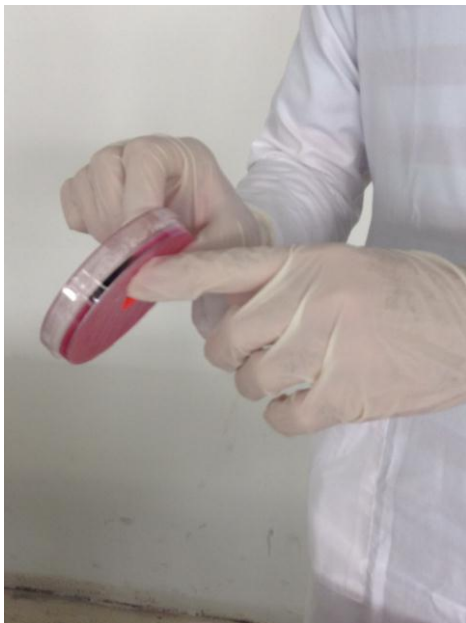


**Anexo #10**



Cajas Petri con contenido negativo de *Salmonella*.

**Anexo #11**



**Anexo #12**



Rotulado de las cajas previo a la inoculación.

**Anexo #13**



**Anexo #14**



**Anexo #15**



**Anexo #16**



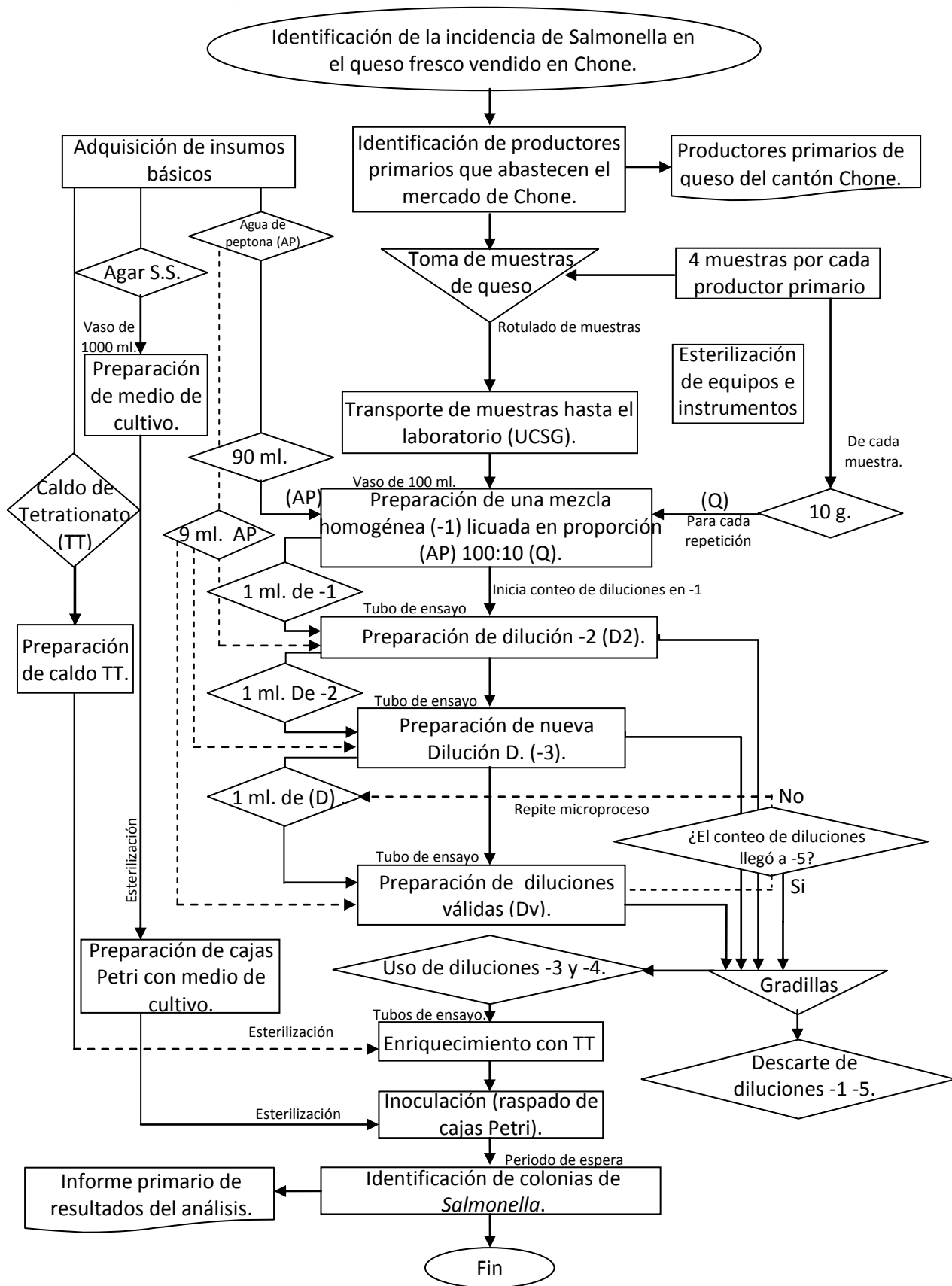
**Anexo #17**



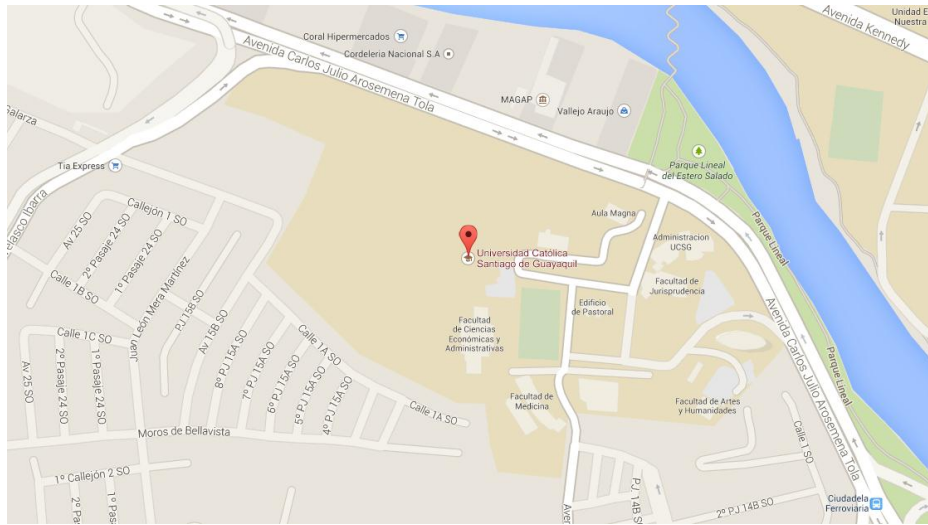
Instalaciones tecnificadas para producción de queso fresco.

## Anexo #18

Diagrama de flujo sobre el desarrollo del experimento.



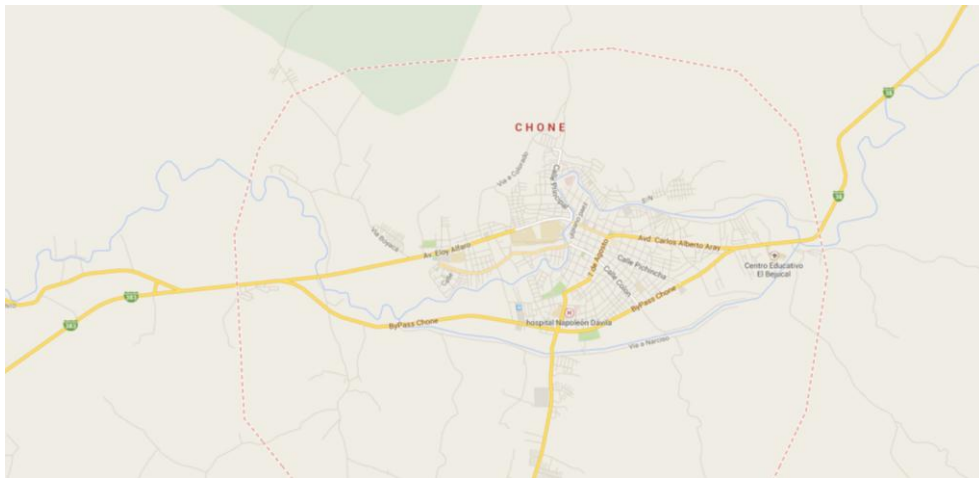
## Anexo #19



Sede de laboratorio, Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.

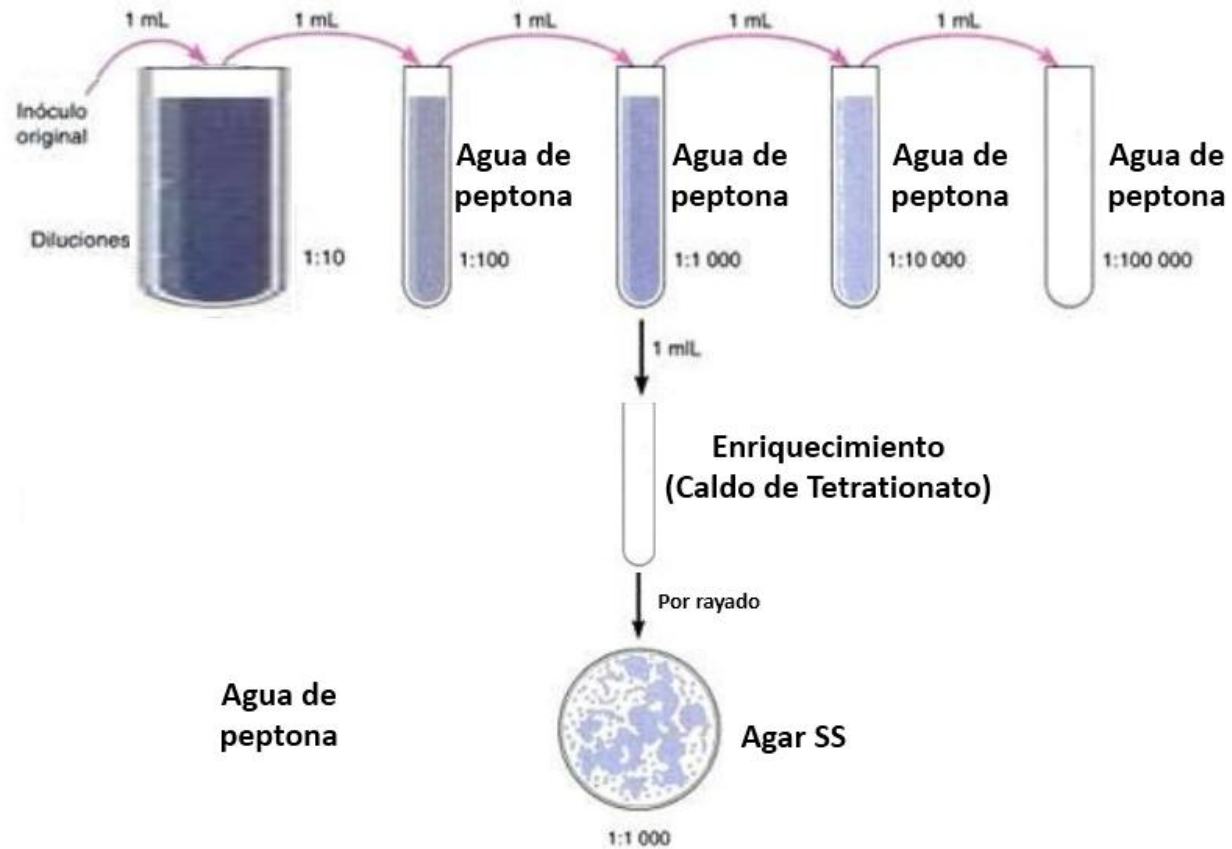
---

## Anexo #20



Sede de campo. Cantón Chone, provincia de Manabí.

## Anexo #21



Elaboración de las diluciones.

## Anexo #16

### Cronograma de actividades.

ACTIVIDADES		Meses	MAYO				JUNIO					JULIO				AGOSTO			
		Semanas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
1	Definición del tema de tesis.		X																
2	Definición del problema.			X															
3	Elaboración y corrección de introducción, hipótesis y objetivos.				X	X													
4	Elaboración de la Revisión de la Literatura.					X	X	X	X	X	X	X	X	X					
5	Determinación de lugares a muestrear.										X								
6	Sondeo preliminar de lugares a muestrear.											X							
7	Recolección de muestras (1era repetición).												X						
8	Análisis de las muestras de la 1era repetición.												X						
9	Recolección de muestras (2da repetición).													X					
10	Análisis de las muestras de la 2da repetición.													X					
11	Recolección de muestras (3era repetición).														X				
12	Análisis de las muestras de la 3era repetición.														X				
13	Recolección de muestras (4ta y 5ta repetición).																X		
14	Análisis de las muestras de la 4ta y 5ta repetición.																X		
15	Tabulación de resultados.																X		
16	Elaboración de informe final.												X	X	X	X	X		
17	Corrección de informe final.																X		
18	Presentación de tesis.																	X	

