



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO  
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

ESCUELA DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

**"EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA CADENA  
PRODUCTIVA DEL QUESO FRESCO - ESPOCH"**

**TESIS DE GRADO**

Previa a la obtención del título de

INGENIERO EN INDUSTRIAS PECUARIAS

AUTOR:

GABRIELA MARGARITA VAYAS CASTILLO

RIOBAMBA – ECUADOR

2012

Esta tesis fue aprobada por el siguiente tribunal

---

Ing. M.C. Luis Gerardo Flores Mancheno.

**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL.**

---

Ing. M.C. Enrique César Vayas Machado.

**DIRECTOR DE TESIS.**

---

Ing. M.C. César Iván Flores Mancheno.

**ASESOR DE TESIS.**

Riobamba, 31 de Octubre del 2012.

## **AGRADECIMIENTO**

Mi sincera gratitud a dios por haberme dado la vida, ya que sin la bendición del señor nada se puede realizar.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, especialmente a la Facultad de Ciencias Pecuarias y en especial a mi Escuela de Ingeniería en Industrias Pecuarias por abrirme las puertas para cursar mis estudios superiores y haberme ayudado a cumplir mí sueño de ser profesional.

A todos mis maestros que me supieron guiar y darme muy buenas enseñanzas, en especial a mi Director de tesis Ing. Enrique Vayas, a mi Asesor Ing. Iván Flores, que supieron impartir todos sus sabios conocimientos para poder culminar con éxito esta investigación.

Gracias a todas las personas que de una u otra manera confiaron en mí y me dieron fuerzas y ánimos para terminar mis estudios superiores.

## **DEDICATORIA**

Dedico a Dios ya que el cómo ser supremo me supo bendecir y darme fuerza para lograr este sueño.

A mis queridos y amados Padres Enrique y Livia, que con sus sabios consejos me supieron guiar por el camino del bien, siendo los pilares fundamentales en vida y que nunca me han abandonado.

A mi esposo Cristian y a mi hija Aylin quienes de una u otra manera de brindaron su apoyo moral e incondicional en todos los momentos de mi vida.

A toda mi familia que me dieron su apoyo moral y que siempre estuvieron a mi lado en los buenos y malos momentos.

## CONTENIDO

	Pág.
Resumen	v
Abstract	vi
Lista de Cuadros	vii
Lista de Gráficos	viii
Lista de Anexos	ix
I. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
II. <u>REVISIÓN DE LITERATURA</u>	3
A. LECHE	3
1. <u>Definición</u>	3
2. <u>Componentes</u>	3
3. <u>Principales características de la leche</u>	3
4. <u>Contaminación de la leche</u>	4
a. Infección de la leche de vaca por los microbios de la glándula mamaria	4
b. Contaminación de la leche en la industria	5
c. Contaminación en el consumo	7
5. <u>Fuentes de contaminación</u>	7
a. Las ubres	8
b. Equipos y utensilios	8
c. El ordeñador	8
d. El ambiente	9
e. Adición de agua	9
6. <u>Algunas consideraciones higiénicas sobre la leche y sus derivados</u>	10

B. EL QUESO	11
1. <u>Definiciones</u>	11
2. <u>Composición</u>	11
3. <u>Proceso de elaboración</u>	12
C. IMPORTANCIA MICROBIOLÓGICA DE LA LECHE BASADO EN ESOS TRES ASPECTOS	16
1. <u>Factores que influyen en el desarrollo de las bacterias</u>	16
2. <u>Factores intrínsecos</u>	17
a. Disponibilidad de nutrientes	17
b. pH y la acidez	18
c. Potencial redox	19
d. Actividad del agua	19
3. <u>Factores extrínsecos</u>	21
a. Humedad relativa	21
b. Temperatura	21
c. Influencia de la luz natural	22
4. <u>Factores implícitos</u>	23
5. <u>Factores de elaboración</u>	23
a. Lavado	23
b. Envasado	24
D. CLASIFICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS	25
1. <u>Escherichia coli.</u>	25
a. Caracterización de los microorganismos	26

b. Parámetros que regulan el desarrollo	27
2. <u>Salmonella</u>	27
3. <u>Staphylococcus aureus</u>	28
4. <u>Conteo de células somáticas (CCS)</u>	28
5. <u>Petrifilm</u>	28
III. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	32
A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO	32
B. UNIDADES EXPERIMENTALES	32
C. MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES	33
1. <u>En el campo</u>	33
2. <u>En el laboratorio</u>	33
3. <u>Reactivos</u>	34
4. <u>Instalaciones</u>	34
D. TRATAMIENTO Y DISEÑO EXPERIMENTAL	34
E. MEDICIONES EXPERIMENTALES	35
F. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA	35
G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	35
1. <u>Antes</u>	35
2. <u>Durante</u>	37
3. <u>Después</u>	37
H. METODOLOGÍA DE LA EVALUACIÓN	38
1. <u>Escherichia Coli, UFC/G</u>	38

2.	<u>Staphylococcus aureus UFC/G</u>	39
3.	<u>Salmonella En 25g</u>	41
4.	<u>Hongos</u>	42
5.	<u>Determinación de células somáticas.</u>	43
IV.	<u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	44
A.	ANÁLISIS DE LA LECHE FRIA	44
1.	<u>Salmonella</u>	44
2.	<u>Staphylococcus</u>	46
3.	<u>Escherichia Coli</u>	48
4.	<u>Células Somáticas</u>	50
5.	<u>Hongos</u>	50
B.	ANÁLISIS DE LA LECHE CALIENTE	51
1.	<u>Salmonella</u>	51
2.	<u>Staphylococcus</u>	52
3.	<u>Escherichia Coli</u>	54
4.	<u>Células Somáticas</u>	56
5.	<u>Hongos</u>	56
C.	ANÁLISIS DE LA CUAJADA	57
1.	<u>Salmonella</u>	57
2.	<u>Staphylococcus</u>	58
3.	<u>Escherichia Coli</u>	59
4.	<u>Hongos</u>	60
D.	ANÁLISIS DEL QUESO FRESCO	62



1. <u>Salmonella</u>	62
2. <u>Staphylococcus</u>	63
3. <u>Escherichia Coli</u>	64
4. <u>Hongos</u>	66
V. <u>CONCLUSIONES</u>	67
VI. <u>RECOMENDACIONES</u>	68
VII. <u>LITERATURA CITADA</u>	69
ANEXOS	

## RESUMEN

En el laboratorio de Microbiología de los Alimentos de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH, se evaluó la calidad microbiológica de la cadena productiva del queso Fresco – Espoch, utilizando 500ml de leche cruda, 500g de cuajada y queso, para el antes, durante y después aplicando un muestreo aleatorio simple con 4 repeticiones, analizándose Salmonella mediante la utilización de un medio de cultivo, Staphylococcus A, Escherichia Coli y Hongos se utilizó placas petrifilm. El antes reportó los siguientes resultados leche fría: Salmonella  $25,00 \pm 17,80$  UFC/ml, Staphylococcus aureus  $104,50 \pm 78,43$  UFC/ml, Escherichia coli  $60,25 \pm 47,12$  UFC/ml, Células somáticas fuertemente positivas. Leche caliente: Salmonella  $12,35 \pm 9,30$  UFC/ml, Staphylococcus aureus  $62,13 \pm 32,72$  UFC/ml, Escherichia coli  $22,88 \pm 18,60$  UFC/ml, Células somáticas ligeramente positivas. Cuajada: Staphylococcus aureus  $9,25 \pm 1,5$  UFC/g, Escherichia coli  $4,75 \pm 4,43$  UFC/g, Hongos  $1,75 \pm 2,36$  UFC/g. Queso: Staphylococcus aureus  $9 \pm 2$  UFC/g, Escherichia coli  $2 \pm 2,83$  UFC/g. Para el durante se realizó una capacitación al personal involucrado con el ordeño y el procesamiento y Después se obtuvieron los siguientes resultados leche fría: Staphylococcus aureus  $12,63 \pm 14,86$  UFC/ml, Escherichia coli  $17,50 \pm 23,63$  UFC/ml, Células somáticas positivas. Leche caliente: Staphylococcus aureus  $15,25 \pm 19,24$  UFC/ml, Escherichia coli  $5 \pm 5,77$  UFC/ml, Células somáticas positivas. Cuajada: Staphylococcus aureus  $0,25 \pm 0,5$  UFC/g, Escherichia coli  $0,25 \pm 0,5$  UFC/g. Queso: Staphylococcus aureus  $0,5 \pm 0,58$  UFC/g. Por lo que se recomienda Continuar desarrollando investigaciones sobre metabolitos microbianos, que impulsen la calidad total de los productos alimenticios que se produce en la planta de Lácteos Tunshi de la FCP – ESPOCH que es la carta de presentación de la institución ante la sociedad, la empresa pública y privada.

## ABSTRACT

The microbiological quality of the productive chain of the cheese – was assessed in the laboratory of Microbiology of food of the Faculty of science at ESPOCH, using 500g of curd and cheese, for the before, during and after applying a simple random sampling with 4 replications, analyzing Salmonella through the use of a means of cultivation, Staphylococcus aureus. Escherichia coli and fungi used petrifilm plates. The preliminary reported the following results of cold milk: Salmonella  $25,00 \pm 17,80$  cfu/ml, Staphylococcus aureus  $104,50 \pm 78,43$  cfu/ml, Escherichia coli  $60,25 \pm 48,12$  cfu/ml, strongly positive somatic cells. Hot milk: salmonella  $12,35 \pm 9,30$  cfu/ml, Staphylococcus aureus  $62,13 \pm 32,72$  cfu/ml, Escherichia coli  $22,88 \pm 18,60$  cfu/ml, slightly positive somatic cells. Curd: Staphylococcus aureus  $9,25 \pm 1,5$  cfu/g, Escherichia coli  $4,75 \pm 4,43$  cfu/g,  $1,75 \pm 2,36$  cfu/g fungi. Cheese: Staphylococcus aureus  $9 \pm 2$  cfu/g, Escherichia coli  $2 \pm 2$  cfu/g. During the process was carried out training to personnel involved with the milking and processing; then were obtained the following results cold milk Staphylococcus aureus  $12,63 \pm 14,83$  cfu/ml, Escherichia coli  $17,50 \pm 23,63$  cfu/ml, positive somatic cells. Hot milk: Staphylococcus aureus  $15,25 \pm 19,24$  cfu/ml, Escherichia coli  $5 \pm 5,77$  cfu/ml, positive somatic cells. Curd Staphylococcus aureus  $0,25 \pm 0,5$  cfu/g, Escherichia coli  $0,25 \pm 0,5$  cfu/g. Cheese: Staphylococcus aureus  $0,5 \pm 0,5$  cfu/g. So it is recommended to continue to develop research on metabolism that drives the overall quality of products produced in the plant of dairy Tunshi of the FCP-ESPOCH which is the letter of the institution before the society, public and private company.

**LISTA DE CUADROS**

Nº		Pág.
1	COMPONENTES DE LA LECHE	3
2	COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DEL QUESO	11
3	PARÁMETROS QUE REGULAN EL DESARROLLO	27
4	CARACTERÍSTICAS METEOROLÓGICAS DE TUNSHI SAN NICOLÁS	32
5	ESQUEMA DEL EXPERIMENTO	35
6	PRESENCIA DE SALMONELLA EN LA LECHE FRÍA CRUDA DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI - ESPOCH	45
7	PRESENCIA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS LECHE FRÍA CRUDA DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI - ESPOCH	47
8	PRESENCIA DE ESCHERICHIA COLI EN LA LECHE FRÍA CRUDA DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI - ESPOCH	49
9	PRESENCIA DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN LA LECHE FRÍA CRUDA DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI - ESPOCH	50
10	PRESENCIA DE HONGOS EN LA LECHE FRÍA CRUDA DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI - ESPOCH	51
11	PRESENCIA DE SALMONELLA EN LA LECHE CALIENTE DE LA PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH	52
12	PRESENCIA DE SALMONELLA EN LA LECHE CALIENTE DE LA PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH	53
13	PRESENCIA DE ESCHERICHIA COLI EN LA LECHE CALIENTE DE LA PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH	55
14	PRESENCIA DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN LA LECHE CALIENTE CRUDA DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI - ESPOCH	56
15	PRESENCIA DE HONGOS EN LA LECHE CALIENTE CRUDA DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI - ESPOCH	57
16	PRESENCIA DE SALMONELLA EN LA CUAJADA DE LECHE EN LA PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH	57
17	PRESENCIA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN LA CUAJADA DE	58

	LECHE EN LA PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH	
18	PRESENCIA DE ESCHERICHIA COLI EN LA CUAJADA DE LECHE EN LA PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH	60
19	PRESENCIA DE HONGOS EN LA CUAJADA DE LECHE EN LA PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH	61
20	PRESENCIA DE SALMONELLA EN LA QUESO FRESCO PRODUCIDO EN LA PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH	63
21	PRESENCIA DE STHAPYLOCOCCUS AUREUS EN EL QUESO FRESCO PRODUCIDO EN PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH	64
22	PRESENCIA DE ESCHERICHIA COLI EN EL QUESO FRESCO PRODUCIDO EN PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH	65
23	PRESENCIA DE HONGOS EN EL QUESO FRESCO PRODUCIDO EN PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH	66

**LISTA DE GRÁFICOS**

Nº		Pág.
1	Diagrama de flujo del queso	15
2	Presencia de salmonella de la leche fría de la planta de lácteos Epoch	46
3	Presencia de sthapylococcus de la leche fría de la planta de lácteos Epoch	47
4	Presencia de escherichia coli de la leche fría de la planta de lácteos Epoch	49
5	Presencia de salmonella de la leche caliente de la planta de lácteos Epoch	52
6	Presencia de staphylococcus de la leche caliente de la planta de lácteos Epoch	54
7	Presencia de escherichia coli en la leche caliente de la planta de lácteos Epoch	55
8	Presencia de staphylococcus de la cuajada producida en la planta de lácteos Epoch	59
9	Presencia de escherichia coli en la cuajada producida en la planta de lácteos Epoch	60
10	Presencia de hongos en la cuajada producida en la planta de lácteos Epoch	62
11	Presencia de staphylococcus en el queso producido en la planta de lácteos Epoch	64
12	Presencia de staphylococcus en el queso producido en la planta de lácteos Epoch	66

## LISTA DE ANEXOS

N°

- 1 Salmonella en la leche fría de la planta de lácteos de la EPOCH
- 2 Staphylococcus en la leche fría de la planta de lácteos de la EPOCH
- 3 Escherichia coli en la leche fría de la planta de lácteos de la EPOCH
- 4 Salmonelosis en la leche caliente de la planta de lácteos de la EPOCH
- 5 Staphylococcus en la leche caliente de la planta de lácteos de la EPOCH
- 6 Escherichia coli en la leche caliente de la planta de lácteos de la EPOCH
- 7 Staphylococcus en la cuajada producida en la planta de lácteos de la EPOCH
- 8 Escherichia coli en la cuajada producido en la planta de lácteos de la EPOCH
- 9 Hongos en la cuajada producida en la planta de lácteos de la EPOCH
- 10 Staphylococcus en el queso producido en la planta de lácteos de la EPOCH
- 11 Escherichia coli en el queso producido en la planta de lácteos de la EPOCH
- 12 Cuadro resumen del análisis microbiológico
- 13 Fotos
- 14 Normas INEN
- 15 Registro del control microbiológico de la leche cruda, cuajada y queso fresco producido en la planta de lácteos Tunshi

## **I. INTRODUCCIÓN**

La calidad microbiológica de la leche constituye el factor variable en la industria láctea, especialmente cuando la leche procede de un gran número de granjas. El quesero de granja tiene, o debe tener un control sobre la producción lechera, en especial por lo que respecta a la higiene de los métodos empleados. Si bien en algunas zonas se han implantado sistemas de penalización para la leche de baja calidad higiénica, éstos solo resultan eficaces cuando existen diferencias de precio. Para el procesamiento se debe considerar las condiciones climatológicas, el transporte, almacenamiento y la recepción de leche, en consecuencia ejercer un análisis y control adecuado para determinar contaminaciones. La leche que contiene un elevado número de leucocitos, así como el uso de fármacos empleados como la penicilina para el tratamiento de las enfermedades constituida por microorganismos como: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, células somáticas.

Las ETA's son adquiridas por la ingestión de microorganismos o de toxinas bacterianas presentes en los alimentos y son mundialmente consideradas como la primera causa de muerte en la niñez y la segunda causa para todas las edades. Según reportes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Oficina Sanitaria Panamericana (OPS) los derivados lácteos ocupan el quinto lugar entre los alimentos que frecuentemente ocasionan ETA's en países como el Ecuador son alimentos consumidos comúnmente por su alto contenido nutricional y bajo costo.

La contaminación microbiana produce considerables pérdidas económicas a los productores, desprestigio de la marca del queso, disminuye la vida de anaquel, devoluciones del producto comercializado y con el riesgo de causar enfermedades de carácter entérico e incluso la muerte del consumidor final.

Los productores de quesos de nuestra región, por su grado de cultura no están preparados para determinar la presencia de microorganismos en la materia prima y en los productos por lo que es necesario darles un asesoramiento y capacitación



continúa en cada una de las etapas de la cadena productiva del queso fresco Epoch.

La presente investigación tiene como finalidad disminuir la contaminación microbiana en la cadena productiva del queso fresco- Epoch, mediante la observación directa en la finca, manejo y obtención de la leche, refrigeración, transporte, recepción de leche en la planta, procesamiento y conservación del queso; capacitar a los productores de leche y a los operarios de la planta en Buenas Prácticas de Ordeño y Buenas Prácticas de Manufactura, para mejorar la calidad microbiológica de los productos.

De esta manera se plantean los siguientes objetivos:

- Determinar el manejo y obtención de la leche en la finca.
- Capacitar a los proveedores de leche y a los involucrados en el procesamiento.
- Realizar los análisis microbiológicos de la materia prima, del proceso y el producto final.
- Identificar las condiciones microbiológicas del queso durante su vida de anaquel.

## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **A. LA LECHE**

#### **1. Definición.**

Según <http://www.mailxmail.com/curso-leche-produccion-lactea/leche-definicion-composicion>. (2009), es el producto íntegro y fresco del ordeño completo, en condiciones de higiene, de vacas lecheras, sanas, bien alimentadas y en reposo, exentas de calostro y que cumplan con los caracteres físicos y bacteriológicos que se establecen. <http://vvalenciaudc.tripod.com/def.htm>. (2008), dice que, es un producto integral del ordeño total e ininterrumpido, en condiciones de higiene que da la vaca lechera en buen estado de salud y alimentación. Esto además, sin aditivos de ninguna especie.

#### **2. Componentes.**

En el cuadro 1, se explica los componentes de la leche.

Cuadro 1. COMPONENTES DE LA LECHE.

COMPONENTES	%
Agua	90%
Proteína	2.8 - 3.1
Grasa	2.9 – 3.3
Lactosa	3.6 – 5.5
Vitaminas	A, B1, B2, C Y D
Minerales	Calcio, Fósforo, Potasio, Sodio, Magnesio y otros en menores cantidades

Fuente: <http://es.wikipedia.org/wiki/Leche>. (2012).

#### **3. Principales características de la leche.**

Según <http://es.wikipedia.org/wiki/Leche>. (2012).

Color: Líquido blanco y opaco, en verano puede ofrecer una tonalidad ligeramente amarillenta.

Sabor: dulce característico

Aroma: característico

Consistencia: uniforme sin grumos

#### **4. Contaminación de la leche.**

<http://www.misionrg.com.ar/lacconta.htm#BACTERIOLOGIA%20DE%20LAS%20LECHES%20DE%20QUESERIA>. (2009), dice que uno de los factores que mayor influencia ofrecen dentro de los múltiples aspectos de la industria de la leche es el microbiano. Los gérmenes vivos: Bacterias, levaduras y mohos, bien procedentes del interior de la ubre o del medio externo, y que en éste caso llegan a la leche una vez ordeñada, se desarrollan fácilmente en dicho alimento, multiplicándose con extraordinaria velocidad y produciendo diversas modificaciones en la composición y constitución del mencionado líquido nutritivo, hasta tal punto que con frecuencia le alteran, haciéndolo impropio para el consumo o bien imposibilitan su aprovechamiento industrial. No siempre los gérmenes constituyen a la alteración de la leche, en ocasiones su desarrollo convenientemente dirigido por el hombre favorece determinando transformación de dicho producto, haciéndolo incluso más apetitoso y digestible.

##### **a. Infección de la leche de vaca por los microbios de la glándula mamaria.**

La contaminación de la leche en la ubre puede estudiarse desde los siguientes puntos:

**Contaminación en la finca:** Los microbios invaden la leche en el acto del ordeño y en el establo, pues el forraje y el estiércol son dos materias muy ricas en gérmenes, especialmente el segundo, que por gramo de sustancia contiene millones de bacterias. La contaminación de la leche por el aire impuro de la finca no suele tener

tanta gravedad como lo que producen los cubos de ordeño sucios y las heces de los animales. Sin embargo, la práctica no debe olvidarse que los forrajes contienen gran cantidad de gérmenes esporulados, muy resistentes a las altas temperaturas y también mohos y levaduras que ofrecen así mismo tal propiedad y complican el proceso de pasterización de la leche, por lo que ha de evitarse que éste alimento se ensucie por el polvo especialmente el que se forma en el tambo al distribuirse el pienso, sobre todo el heno. También se puede contaminar la leche si los cubos de ordeño están contaminados, también los filtros y refrigerantes; para evitar esto deben ser limpiados, desinfectados y esterilizados. Sobre todo el ordeñador ejerce una importante influencia de contaminación de la leche. Cuando actúan en operaciones de la finca y sobretodo en el ordeño realizando con las manos limpias incluso desinfectadas, la producción de la leche se efectuará con el mínimo contagio de origen humano. Si el encargado de realizar el ordeño tiene alguna enfermedad infecciosa, no deberá realizar la tarea. En resumen, aparte de la influencia de la contaminación interna, es decir, la que se realiza en los conductos mamarios, la externa es producida principalmente por el excremento, pelo y descascaron de la res, los utensilios sucios o mal lavados, y no esterilizados, el polvo de los forrajes, etc., todo ello agravado en el caso de que el cubo de ordeño ofrezca una boca muy ancha. La construcción del tambo tiene menos importancia que su limpieza y entretenimiento; ya North demostró en 1918 que en tambos muy modestos, inadecuados incluso, se puede obtener leche magnífica, y también confirmó la enorme importancia que la destreza y aseo del ordeñador tiene en todo cuanto se refiere a la producción higiénica de la leche. Dicho técnico norteamericano, investigando la riqueza microbiana de la leche obtenida en varias granjas y según se ordeñara por una persona muy hábil o por un ordeñador no especializado.

#### **b. Contaminación de la leche en la industria.**

La leche, una vez ordeñada, se filtra, se enfría, se homogeniza y envasa. Tales operaciones pueden, en ocasiones, aumentar la riqueza microbiana de la leche. Por lo que conviene realizar su estudio, aunque desde luego dichas prácticas más bien

favorece la condición higiénica de dicho producto. La leche ya fuera del tambo puede sufrir nuevas contaminaciones que se realizan, como es natural, en la industria, en el curso de los tratamientos a los que se somete para mejorar su conservación, pero muchas veces, por producirse en forma inadecuada, tiene efectos contrarios a aquello que se desea conseguir. Así, por ejemplo, la filtración, es una de las prácticas, que con mayor frecuencia se efectúa en la lechería, grande o pequeño, e incluso, a veces, hasta en el tambo, y con el fin de privar a la leche de las impurezas y microbios que lo han contaminado en la vaquería. Sin embargo la filtración, de ordinario, en vez de limpiar la leche no suele servir más que para impurificarla.

También en la refrigeración, el embotellado, y el de los trasiegos a que se somete la leche en la industria pueden verificarse algunas contaminaciones microbianas, generalmente de menor importancia que las que se efectúan durante la filtración, pero que en ciertas cosas son bastantes considerables, y se deben a que dichas operaciones no se hacen en condiciones higiénicas adecuadas.

Filtración: La filtración, aunque contribuye a separar las impurezas gruesas de la leche, en la práctica muchas veces ocasiona más perjuicio que beneficio.

Refrigeración: Puede contaminar la leche, pero su grado de contaminación es muy bajo, sobre todo cuando dicha operación se realiza en locales limpios.

Trasiegos: Al atravesar la leche de un recipiente hacia otro el grado de contaminación de la leche es minúsculo. Los investigadores alemanes demuestran que durante los trasiegos, la contaminación de la leche puede ser importante, sobre todo en el acto del envasado, por que las botellas son, de todos los recipientes de la industria, los más difíciles de esterilizar.

Homogeneizadores: Son difíciles de desinfectar, se deberá examinar bacteriológicamente la leche antes y después de atravesarlos. En caso de que se

demuestre la influencia de contaminación se procederá con el mayor rigor de desinfección de los homogeneizadores.

### **c. Contaminación en el consumo.**

Para que la leche se consuma en las mejores condiciones higiénicas, no basta aunque ello sea con mucho lo más importante que se distribuya perfectamente pasteurizada y en envases bien tapados. Naturalmente, en ésta circunstancia hay un 95% de probabilidades de que dicho líquido nutritivo se ingiera sin producir trastornos a las persona. Sin embargo, no debe olvidarse, que si el consumidor saca la leche de la botella y la trasvasa a un recipiente sucio en donde lo guarda en varias horas, es muy probable que aquel líquido se estropee y hasta que pueda transformarse en caldo de cultivo pernicioso para la salud. Si el consumidor recibe la leche perfectamente pasteurizada y embotellada, lo mejor que puede hacer es servírsela directamente de la botella o en todo caso trasvasarla a otro recipiente bien lavado y jabonado. En ciertos casos puede ocurrir que habiendo salido la botella de leche en perfectas condiciones de la central pasteurizada, en el despacho a donde fue a parar para ser expedida se ensucie por fuera. Debe tenerse en cuenta ésta circunstancia, por que cuando eso ocurre el consumidor, al verter la leche en otro recipiente con el líquido puede arrastrar los gérmenes que existen en la superficie externa de la superficie del envase, los cuales se encontrarán en magnificas condiciones para multiplicarse e incluso alterar la leche.

## **5. Fuentes de contaminación.**

<http://es.wikipedia.org/wiki/Leche>. (2012), señala que los microorganismos pueden encontrarse en todo lugar: en los animales, en la gente, en el aire, en la tierra, en el agua y en la leche. Una leche de buena calidad, segura para consumo humano, es el resultado de reconocidas prácticas sanitarias observadas a lo largo de todas las etapas del proceso, desde la extracción de la leche hasta su envasado.

Las principales fuentes de contaminación en la leche cruda por presencia de microorganismos están constituidas por superficies tales como las ubres del animal y los utensilios.

Durante el manipuleo, las manos también portan bacterias a la leche. Por ello, resulta sumamente importante lavar cuidadosamente las manos y las superficies con agua limpia.

#### **a. Las ubres.**

La leche al interior de una ubre saludable contiene relativamente pocos microorganismos. Sin embargo, la superficie externa puede acoger a un gran número de éstos. La suciedad -como el barro seco o el estiércol en el forraje y en el pelo del animal - puede transmitir millones de bacterias a la leche. Resulta de vital importancia observar buenas prácticas en el ordeño, y mantener la limpieza de las ubres es esencial. Si además el animal sufre de infecciones como la mastitis, la leche puede contener microorganismos patógenos realmente dañinos.

#### **b. Equipos y utensilios.**

Los utensilios empleados en el procesamiento de productos lácteos -tales como los baldes para el ordeño y los filtros - acumulan organismos de descomposición si no son debidamente lavados y desinfectados después de su uso. Los equipos de madera, o aquellos cuyo diseño no es liso y contiene juntas y ángulos, resultan muy difíciles de limpiar, y proporcionan lugares aptos para el desarrollo de microorganismos. Los filtros de tela deben ser lavados cuidadosamente y secados, de preferencia al sol, después de cada uso.

### **c. El ordeñador.**

Al pasar de un animal a otro, el ordeñador puede transmitir los microorganismos patógenos a todo el rebaño, lo que contaminaría toda la leche. Una persona que padece de alguna infección también puede infectar la leche, volviéndola no apta para el consumo humano. El ordeñador desempeña un rol de vital importancia en el control de los niveles sanitarios. Debe asegurar que se mantenga un estado de pulcritud en las instalaciones y utensilios, que los animales estén limpios y en buen estado de salud, además de observar su propia higiene personal.

Al realizar el ordeño, siempre deben realizarse dos tareas: Desinfectar el pezón con agua destilada: Esto se realiza con una malla fabricada con manta de cielo (una tela de color blanco realizada con hilo fino). Al disparar un chorrito de leche hacia ésta, se debe observar si la leche sale sin grumos, puesto que esto puede significar que la vaca tiene mastitis. Sellar el pezón: Se realiza con la misma solución con la que se limpian las succionadoras. La diferencia radica en que el pezón se va a limpiar totalmente con esta solución para cerrar el conducto lactífero. De esta forma se evita que el pezón se infecte. Si la succionadora generó una herida en el animal, pues éste tiene piel muy sensible, el yodo evitará una infección posterior.

### **d. El ambiente.**

El ambiente al interior y en los alrededores de las instalaciones donde se lleva a cabo el ordeño afecta los niveles de contaminación que se registren en la leche. Si el ordeño se realiza al interior del establo, como sucede normalmente en las granjas pequeñas, existe un alto riesgo de contaminación a través del aire y de los insectos que pululan en el lugar, particularmente las moscas. Resulta más adecuado realizar el ordeño en un ambiente especial, pero si ello no es factible, es preferible que esta tarea se realice en el pastizal y no en el establo. En la medida de lo posible, los recipientes que contengan la leche deben mantenerse cubiertos.



#### **e. Adición de agua.**

Utilizar agua contaminada para lavar las ubres de los animales y los utensilios, entre otros, puede ser causa de contaminación. El suministro de agua limpia resulta esencial para disminuir los niveles de contaminación.

### **6. Algunas consideraciones higiénicas sobre la leche y sus derivados.**

La leche al interior de la cisterna, se conoce es estéril, es decir, no hay microorganismos en ella, sin embargo al realizar el ordeño, hay riesgos de contaminación; por ejemplo, cuando las ubres de la vaca no son aseadas previo al ordeño, se quedan sucias de tierra y estiércol, mismos que pueden contener altas cargas bacterianas y parte de estas pueden ser patógenas; por otro lado, existe una enfermedad bastante común conocida como mastitis, que no es más que una infección en las ubres causada por el *staphylococcus aureus*, dependiendo del grado de la infección, la sub-clínica que es la más leve y la clínica que puede ser grave y en donde el veterinario-clínico debe recomendar no integrar la leche de estos animales al ordeño total, debido a que la leche al salir por los conductos de las ubres arrastra leche y tejidos en descomposición (pus), producto de esta infección, por este y otros motivos no es recomendable tomar leche cruda ni derivados lácteos sin pasteurizar.

Hoy día, existen las que se conocen como “Buenas prácticas de ordeño” y que todo productor profesional de leche debe conocer y poner en práctica, estas contemplan desde la limpieza que debe haber en los echaderos e instalaciones en donde duermen y descansan las vacas, hasta el procedimiento para realizar el lavado de tanques y conductos por donde pasa la leche mientras se ejecuta el ordeño, así como, la forma de limpiar las ubres antes del ordeño y el sellado de las mismas con alguna sustancia antiséptica, como el azul de metileno o el yodo, este sellado protege las entradas de los conductos de las ubres, evitando que ingrese suciedad que equivale a cargas microbianas.

El mantenimiento de la cadena de frío, significa que tanto la leche y derivados pasteurizados, conocidos también como frescos, requieren mantener una temperatura de 4°C, para evitar el crecimiento de microorganismos, cuando la cadena se rompe y son sometidos a mayores temperaturas, se van consiguiendo diferentes niveles de crecimiento de microorganismo.

Para verificar la calidad microbiológica, se realizan pruebas de decoloración que indican que tan grande puede ser la carga de microorganismos, precisando más la técnica: se toman muestras y se siembran en medios selectivos, se incuban y se cuentan las colonias, existe un medio que permite prácticamente el crecimiento de todos los microorganismos aerobios (requieren aire para crecer), en ellos se puede observar de colonias de cualquier bacteria, hasta hongos y levaduras, que por cierto son muy comunes en la leche y sus derivados.

## **B. EL QUESO.**

### **1. Definiciones.**

Revilla A. (1996), manifiesta que el queso es el producto obtenido mediante coagulación de la leche y eliminación del suero. Puede ser hecho de diferentes tipos de leche y diferentes tipos de técnicas.

Gavilán E. (2000), señala que es un producto resultante de la concentración de una parte de la materia seca de la leche por medio de la coagulación con ácido o cuajo.

### **2. Composición.**

Según indica el cuadro 2, la composición nutricional del queso.

Cuadro 2. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DEL QUESO.

Nutriente	Contenido %
Grasa	24%
Proteína	21%
Carbohidratos	2%
Sales minerales	2%
Agua	50%
Sal refinada	1%
Vitaminas A,B,D,E,K	En menor proporción

Fuente: Dubach, J. (1988).

### **3. Proceso de elaboración.**

<http://html.rincondelvago.com/proceso-de-elaboracion-del-queso.html>. (1998), reporta que la leche cruda es transportada en cisternas de acero inoxidable y en bidones plásticos, por medio de camiones de baranda, una vez que llega a la planta procesadora se procede al lavado de los tanques normalmente en áreas externas a la planta.

Higienización / Medición / Enfriamiento: La leche se hace pasar por un filtro de tela fina, en ese momento puede ser medida ya sea por volumen o a través de una balanza incorporada al tanque de recepción para medir el peso.

Luego se bombea hacia el sistema de enfriamiento de placas para bajar su temperatura a 4° C. Este procedimiento no siempre se cumple en todas las queseras. Almacenamiento de leche en planta: La leche cruda enfriada es almacenada en los tanques silos de leche cruda, antes de ser impulsada a la línea de proceso.

Estandarización: La leche cruda, es bombeada hacia la descremadora para estandarizar el contenido de materia grasa a 2.5 %, separando la grasa en exceso del parámetro en forma de crema.

Pasteurización / Enfriamiento / Traslado de leche: La leche es impulsada hacia el intercambiador de calor de placas denominado (sistema de pasteurización HTST) por

medio de bombeo, en el cual se realiza el ciclo de pasteurización a 76° C durante 15 segundos en la sección de calentamiento del intercambiador de calor y el tubo de mantenimiento (serpentín) para ser enfriada en la sección de enfriamiento del HTST hasta 33-34° C., luego es impulsada a la tina en la que se elaborará el producto.

**Inoculación:** La leche calentada hasta 33-34° C. se le agrega los aditivos (Cuajo líquido y cultivos lácticos mesófilos) y se agita para lograr una distribución homogénea de los aditivos. Esta operación es realizada en un tiempo aproximado de 10-15 minutos.

**Coagulación:** La mezcla inoculada coagula totalmente a 33-34° C durante un periodo de 30-40 minutos.

**Corte manual de la cuajada:** Una vez que se lleva a cabo la coagulación de la leche (33-34 ° C) se procede al corte del producto formado utilizando liras de acero inoxidable provistas de cuerdas de acero inoxidable tensadas, que son las que realizan el corte de la leche cuajada. Esta operación es realizada en un tiempo de aproximadamente 10-15 minutos.

**Desuerado:** Se da previamente 30 minutos de agitación rápida auxiliado con las palas plásticas y 10 minutos de agitación lenta y se procede a realizar el desuerado total del producto a 33-34 ° C durante 45 minutos, haciendo drenar todo el suero contenido en él.

**Salado:** El queso concentrado a 33-34° C, en una alternativa, es llevado en bloque a la máquina picadora para su trituración y se le va agregando la sal con una dosificación de 0.18 libras de sal por cada 4 litros de leche procesada. La otra alternativa es desuerar y reintegrar el 20 % del suero con una concentración de sal del 7 % peso / volumen. Es agitado durante 15 minutos para lograr un salado homogéneo, se desuera totalmente y es llevado en bloque a la máquina picadora

para su trituración. En ambos procesos se logra tener en el producto final una concentración de sal de 4.5 %.

Moldeo /Prensado: El producto salado (33-34° C) es colocado en moldes de acero inoxidable y prensados a 100 PSI en una prensa hidráulica por un periodo de 48 horas.

Empaque: El producto terminado es empacado en bolsas de Poli-Etileno de Baja Densidad.

Almacenamiento: Almacenamiento de quesos prensados Empaque al vacío.

Los quesos son llevados al cuarto frío de almacenamiento de producto terminado manteniéndose la temperatura a 4-8° C para garantizar una vida útil de 60 días.

Expendio: El producto es vendido algunas veces en planta, otras veces se transporta al extranjero directamente en camiones provistos de frío para mantener la temperatura adecuada entre 4-6° C.

Como se lo explica en el gráfico 1, en el diagrama de flujo de la elaboración del queso.

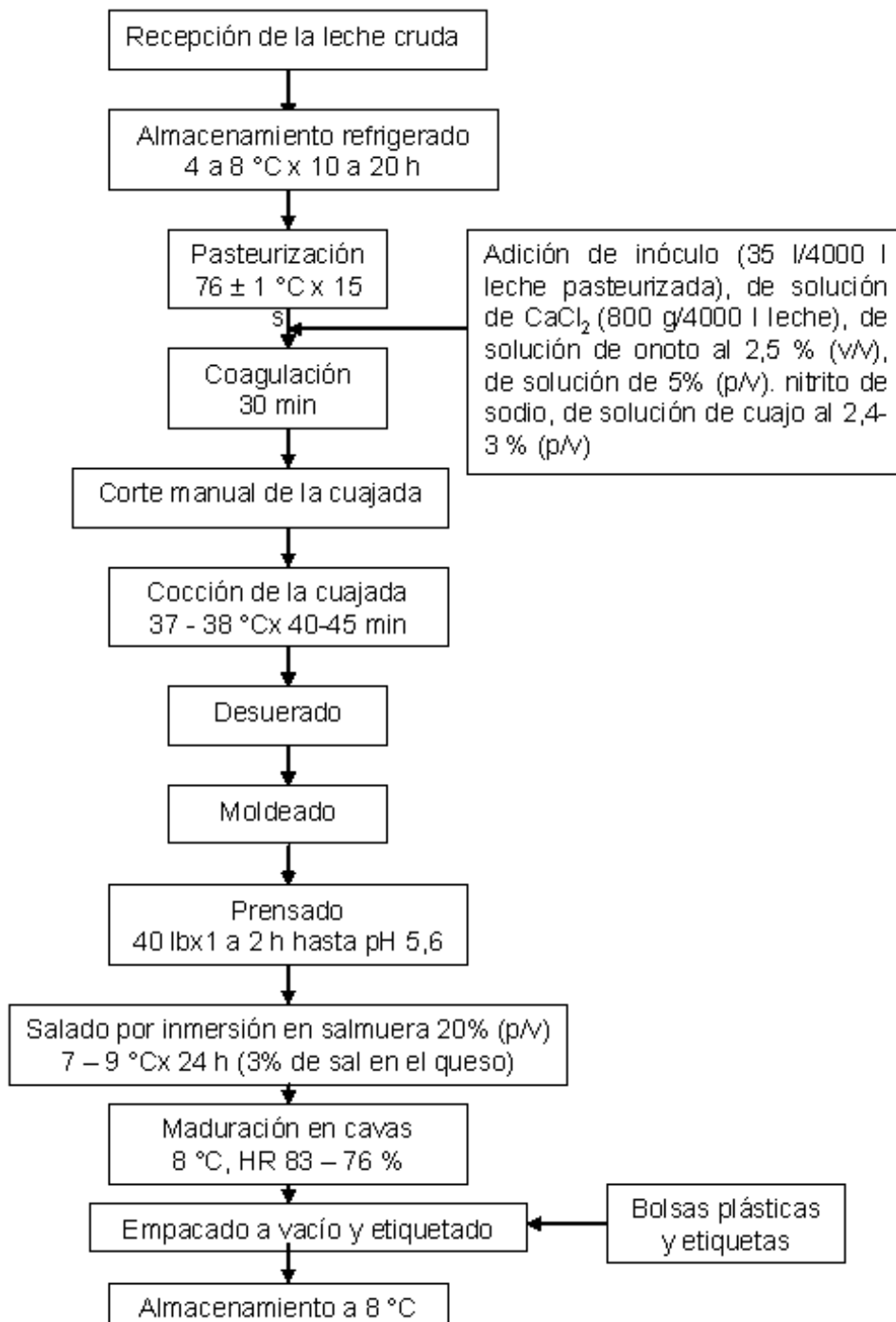


Gráfico 1. Diagrama de Flujo del queso.

Fuente: <http://html.rincondelvago.com/proceso-de-elaboracion-del-queso.html>, (1998).

## **C. IMPORTANCIA MICROBIOLÓGICA DE LA LECHE BASADO EN ESOS TRES ASPECTOS**

<http://www.inia.gob.pe/boletin/boletin0023/contaminacion%20de%20la%20leche.htm>. (1999), dice que los microorganismos producen cambios deseables en las características físico químicas de la leche durante la elaboración de diversos productos lácteos.

Los productos lácteos y la leche pueden contaminarse con microorganismos patógenos o sus toxinas y provocar enfermedad en el consumidor.

Los microorganismos pueden causar alteraciones de la leche y productos lácteos haciéndolos inadecuados para el consumo.

### **1. Factores que influyen en el desarrollo de las bacterias.**

Flores I. (1998), manifiesta que las bacterias son microorganismos que crecen, desarrollan y se reproducen siempre y cuando encuentren medios adecuados para estos propósitos. Entre estos medios están los alimentos, que aun con sus estructuras íntegras pueden sufrir contaminaciones y convertirse en medios aceptables de desarrollo de microorganismos a pesar que los productos alimenticios, sean de origen animal o vegetal suelen estar protegidos del medio exterior mediante una serie de estructuras como tegumentos, piel cáscaras o conchas, que forman una verdadera barrera que impide la contaminación de los alimentos. Por otro lado los alimentos tienen estructuras internas de los tejidos que están organizadas en células separadas por membranas y tejido conjuntivo o en paredes y estructuras celulósicas si se tratan de vegetales. Todo esto limita la propagación de bacterias. Pero existen ciertos alimentos como la leche que no posee estas estructuras por lo que son fácilmente vulnerables por las bacterias. Son muchos factores que influyen en el crecimiento de estos microorganismos a los cuales los podemos clasificar en cuatro

grandes grupos: Factores intrínsecos, factores extrínsecos, factores implícitos y factores de elaboración.

## **2. Factores intrínsecos.**

Son aquellos que forman parte exclusivamente de los alimentos. Entre estos factores podemos citar los siguientes. Incidencia del pH, Potencial Redox, Actividad del agua, Componentes antimicrobianos.

### **a. Disponibilidad de nutrientes.**

En general los microorganismos entre ellos las bacterias necesitan agua, fuentes energéticas, nitrógeno, sales minerales y eventualmente oxígeno y factores de crecimiento para su desarrollo, y son capaces de utilizar alimentos para conseguir estos elementos esenciales y energía. Algunas bacterias que contaminan los alimentos suelen utilizar los hidratos de carbono más que los ácidos grasos o las sustancias nitrogenadas, como fuente de energía, pero solo los monómeros o moléculas más pequeñas son capaces de atravesar las membranas de estos gérmenes, mientras que los polímeros deben hidrolizarse previamente. Otras bacterias se pueden desarrollar desde una fuente de nitrógeno mineral y de un hidrato de carbono; otros necesitan uno o varios aminoácidos, vitaminas o bases nitrogenadas. Algunos tienen como principal fuente de carbono el CO<sub>2</sub>, y otros tienen como fuente de carbono materia orgánica. Por otra parte las bacterias tienen como principal fuente de energía la luz, y otros los cuya fuente de energía es un compuesto químico que se oxida. Algunas bacterias, utilizan un compuesto químico como fuente de carbono, y a su vez, este mismo compuesto es la fuente de energía; la mayor parte de las bacterias cultivadas en laboratorios y las bacterias patógenas son de este grupo. Una parte de bacterias, utilizan compuestos inorgánicos reducidos como fuente de energía y el CO<sub>2</sub> como fuente de carbono, otras utilizan la luz como fuente de energía y el CO<sub>2</sub> como fuente de carbono. Ciertos gérmenes, utilizan la luz como fuente de energía y biomoléculas como fuente de carbono. Una gran



mayoría tienen como fuente de carbono el  $\text{CO}_2$  se alimentan de materia orgánica elaboradas por ellas mismas; otras se alimentan de materia orgánica elaborada por otros microbios, ya sea de materia orgánica viva o materia orgánica muerta.

### **b. pH y la acidez.**

En general, la presencia de ácidos en el alimento produce una drástica reducción de la supervivencia de los microorganismos. Los ácidos fuertes (inorgánicos) producen una rápida bajada del pH externo, aunque su presencia en la mayoría de los alimentos es inaceptable.

Los ácidos orgánicos débiles son más efectivos que los inorgánicos en la acidificación del medio intracelular, se supone que esto ocurre porque es más fácil su difusión a través de la membrana celular en su forma no disociada (lipofílica) y posteriormente se disocian en el interior de la célula inhibiendo el transporte celular y la actividad enzimática.

La mayoría de los microorganismos crecen a pH entre 5 y 8. Las bacterias se desarrollan entre un pH de 4.5 y 9, con un óptimo de crecimiento comprendido entre 6.5 y 7.5. Existen excepciones, como las bacterias acéticas y lácticas, que pueden soportar pH inferiores a 3.5. Otras como las bacterias proteolíticas que pueden soportar un pH mayor a 8.

En general toda disminución de pH provoca un descenso en la tasa de esporulación que se hace muy débil por debajo de 6; así se sabe que a un pH inferior a 4.5, no hay crecimiento de las bacterias ni producción de toxinas. Puesto que la acidificación del interior celular conduce a la pérdida del transporte de nutrientes, los microorganismos no pueden generar más energía de mantenimiento y, a una velocidad variable según las especies, se produce la muerte celular.

### **c. Potencial redox.**

Se piensa que el potencial redox es un importante factor selectivo en todos los ambientes, incluidos los alimentos, que probablemente influye en los tipos de microorganismos presentes y en su metabolismo. El potencial redox indica las relaciones de oxígeno de los microorganismos vivos y puede ser utilizado para especificar el ambiente en que un microorganismo es capaz de generar energía y sintetizar nuevas células sin recurrir al oxígeno molecular: los microorganismos aerobios requieren valores redox positivos y los anaerobios negativos. Cada tipo de microorganismo sólo puede vivir en un estrecho rango de valores redox. Un medio es oxidante cuando captura electrones y es reductor cuando los cede. El potencial redox (Eh) en voltios mide la facilidad por el cual el medio pierde electrones, si es reductor y su potencial redox (Eh) es negativo, o los gana, si es oxidante cuando su potencial redox (Eh) es positivo. A medida que un alimento cambia las condiciones redox, el potencial redox ofrece cierta resistencia a modificarse, lo que se conoce como equilibrio. El oxígeno atmosférico, ya sea en la superficie o en el interior del producto hace que estos productos tengan un potencial redox positivo. Mientras que un medio será reductor cuando contenga sustancias muy hidrogenadas, radicales -SH, azúcares reductoras u otras sustancias, como el ácido ascórbico o el tocoferol. El potencial redox tiene un efecto fundamental sobre la microflora de un alimento, por lo que el crecimiento microbiano se encuadra dentro de un intervalo de potencial redox, dentro del cual son capaces de crecer.

### **d. Actividad del agua.**

Un alimento es un sistema complejo, en el que la presencia del agua es un punto común, ya sea como disolvente de algunos de ellos, ya como elemento estructural de otros, ya como medio de dispersión de los demás. Al hablar del contenido acuoso de un alimento es más evidente en algunos de ellos como una fruta con una pulpa rica en zumo, en trozo de carne, en una preparación de tipo gel, pero otros como frutos secos, gállelas, alimentos desecados o harinas tienen también un cierto contenido

acuoso. La complejidad estructural de los alimentos hace que el agua que contiene pueda estar presente en muchos niveles de sus estructuras, por lo que se ha considerado diferenciar estos contenidos acuosos se han propuesto diferentes definiciones como las siguientes:

**Agua masiva Libre o Atrapada:** Es el agua más fácilmente extraíble que hay en los alimentos, con propiedades similares al agua de una solución y una gran capacidad solvente, de fácil evaporación y congelable.

**Agua Multicapa:** Como su nombre lo indica es el agua que forma varias capas. Está asociada con moléculas vecinas por enlaces de hidrogeno, su capacidad solvente es moderada y es fácil de evaporar. En su mayor parte no es congelable permite algunas reacciones restringidas y representa del 1% al 5% del agua total de un alimento.

**Agua de Constitución (o ligada):** Forma parte integral de constituyentes no acuosos, por ejemplo los intersticios de las proteínas o el agua de hidratación molecular. Carece de capacidad solvente, se evapora muy difícilmente, sólo permite reacciones de auto oxidación y representa menos del 1% del agua total

La aw por tanto nos indica la disponibilidad de agua de un determinado medio. Su valor oscila entre 0 y 1. Así, los frutos secos, ricos en grasas con un porcentaje de agua entre 4% y 9%, las legumbres, ricas en proteínas, con un 9% a un 13% de agua y las frutas desecadas, ricas en sacarosa. Con un 18% a un 25% de agua, pueden tener una misma actividad de agua de un 0.7.

La aw de un alimento puede reducirse aumentando la concentración de solutos en la fase acuosa de los alimentos mediante la extracción del agua o mediante la adición de solutos. La deshidratación es un método de conservación de los alimentos basado en la reducción de la aw, durante el curado y el salado, así como en el

almíbar y otros alimentos azucarado son los solutos los que, al ser añadidos, descienden la aw.

### **3. Factores extrínsecos.**

Estos factores se refieren a las características medioambientales que influyen sobre el crecimiento, desarrollo de los microorganismos y entre éstos tenemos: la humedad relativa, la temperatura, la atmósfera gaseosa, la influencia de la luz.

#### **a. Humedad relativa.**

La humedad relativa (HR) representa la proporción de vapor acuoso existente en un volumen atmosférico, siendo la HR, esencialmente, actividad de aw en fase gaseosa. Así un alimento de baja aw almacenado en una atmósfera con una HR elevada, tiende a establecer un equilibrio, y el agua de la fase gaseosa pasa al alimento. El proceso puede ser lento, pero es posible que se generen zonas superficiales de condensación de agua en las que prosperen gérmenes, que hasta ese momento, estaban en estado latente, a su vez la actividad metabólica y respiratoria de estos gérmenes pueden generar una mayor aw en el medio ambiente próximo, favoreciendo el crecimiento de otras especies. Por otra parte, también hay que tener en cuenta que la HR es muy sensible a la temperatura: Con temperaturas altas, tiende a disminuir y con temperaturas bajas tiende a aumentar, potenciando los fenómenos de condensación.

#### **b. Temperatura.**

La temperatura es uno de los factores fundamentales en el crecimiento de los microorganismos, ya sea en forma directa, por las alteraciones que sufre el germen a diferentes temperaturas o de forma indirecta puesto que los cambios de temperatura influyen en una gran parte de los factores anteriormente analizados, incrementando o disminuyendo su eficacia. La mayoría de las bacterias proliferan a temperaturas

iguales o superiores a 20 °C, aunque existen bacterias que pueden crecer entre -18 °C y 100 °C, pero a estos valores extremos el crecimiento es limitado pero la actividad metabólica puede ser significativa, por ejemplo la actividad lipásica en *Pseudomonas fragi* al cabo de 21 días de incubación a 21°C. Cada organismo presenta una temperatura óptima, a la cual, sus funciones metabólicas y, por tanto, su capacidad de crecimiento, tiene su rendimiento máximo. Por encima y por debajo de ella existen unos márgenes de temperatura dentro de los que es posible una proliferación y unas actividades significativas del germen, estos valores se conocen como Temperaturas Cardiales. La zona comprendida entre la temperatura mínima y la máxima es la Zona Eugénica; las temperaturas inferiores o superiores a las de la zona eugénica respectivamente, constituyen la Zona Disgénica de temperaturas para un microorganismo dado. Si representamos gráficamente la velocidad de crecimiento de un germen cualquiera obtendremos una curva como la que señala.

Temperaturas inferiores a la óptima, la velocidad de crecimiento de los microorganismos disminuye y los periodos de latencia se alargan mucho. A una temperatura de refrigeración (0 - 5° C) algunas bacterias dependiendo de su temperatura óptima crecen más rápidamente que otras. Las temperaturas superiores a las de crecimiento óptimo producen. El tiempo en que los microorganismos mueren a altas temperaturas se denomina Tiempo Térmico Letal.

### **c. Influencia de la luz natural.**

La luz, que influye sobre los organismos, proviene directa o indirectamente casi exclusivamente del Sol, aunque en las urbes modernas la iluminación artificial tiene una innegable influencia ecológica. Con excepción de algunas bacterias, todos los organismos existentes en la Tierra dependen de la luz. Es el caso de ciertas bacterias reductoras del azufre, o bacterias que viven en soluciones salinas y en los nitratos, o las llamadas bacterias del petróleo, estas últimas descubiertas en los pozos profundos y cuya vida consiste en devorar hidrocarburos. En profundas perforaciones también se han encontrado bacterias, incluyendo un bacilo

estrictamente anaerobio, o sea, que solo puede vivir en donde no haya oxígeno, ni dónde llega la luz

#### **4. Factores implícitos.**

Estos factores se refieren a las propiedades de los gérmenes y sus posibles interacciones. Las bacterias durante su crecimiento y su proliferación sobre el alimento cambian su composición y algunos parámetros físico-químicos. La actividad metabólica de los gérmenes modifica el contenido de algunos nutrientes o aumenta la presencia de otros como productos residuales, que pueden actuar como sustancias antimicrobianas, impidiendo el crecimiento de otros tipos de microorganismos fenómeno llamado Antagonismo o como sustratos necesarios que garantizan la presencia de otros Sinergismo. Puede existir un beneficio mutuo entre microorganismos llamado Simbiosis, o un fenómeno en el que un microorganismo se beneficia y el otro ni se beneficia ni se perjudica llamado Comensalismo. Las sucesiones microbianas tienen bastante relación con las modificaciones físico-químicas o de nutrientes, esto es lo que sucede con la microflora aerobia que consume oxígeno y deja el ambiente perfectamente preparado para la proliferación de anaerobios.

#### **5. Factores de elaboración.**

Estos Factores ejercen sus efectos sobre uno o varios de los factores precedentes, por lo general son aplicados por el fabricante.

##### **a. Lavado.**

Las medidas higiénicas primordiales que deben seguir los manipuladores serán las que permitan que todos los procesos de manipulación sucedan en condiciones adecuadas. Hay medidas de carácter personal fundamentales que indicaremos a continuación: Lavado de las manos, cepillado de dientes, la ropa de trabajo ha de ser

de uso exclusivo incluir alguna prenda para la cabeza que recoja bien el cabello, no hablar durante el trabajo, en lo posible usar mascarilla, instas operaciones se deben hacer sistemáticamente en estos casos:

- Antes de iniciar la jornada de trabajo.
- Antes de manipular los artículos alimenticios.
- Antes y después del uso de los aseos.
- Tras la manipulación de embalajes o de materiales de desecho.
- En cada cambio de operación o de puesto de trabajo.

Del mismo modo, se atenderá la limpieza de las superficies y de los equipos de trabajo antes y después de la jornada diaria.

#### **b. Envasado.**

Para preservar la calidad de los alimentos y protegerlos de los daños que pudieran producirse durante su transporte, distribución y almacenamiento se recurre a diferentes sistemas de envasado que funcionan en tres niveles:

A nivel físico, protegiendo de la luz, el polvo, la suciedad.

A nivel químico, impidiendo el paso de gases, como el oxígeno o el vapor del agua.

A nivel microbiológico, evitando que el alimento se contamine con la presencia de gérmenes del medio. Se debe utilizar recipientes de material estéril al agua o grasa: de vidrio, metal plástico que estén provistos de un cierre hermético y que sean previamente esterilizados.

Tratamientos térmicos: La destrucción de microorganismos por efecto del calor (temperaturas superiores a aquellas que crecen los microorganismos) en un tiempo dado tiempo térmico letal es un medio que se utiliza como conservación de los

alimentos, ya que impide la multiplicación de las bacterias, causan la muerte de las formas vegetativas y destruyen las esporas.

Tratamientos por radiaciones: La radiación es un procedimiento Físico que consiste en exponerlos a la acción directa de radiaciones electromagnéticas, electrónicas o atómicas con el fin de destruir a los microorganismos, mejorar la calidad higiénica. La radiación ultravioleta penetra poco en los líquidos y casi nada en los sólidos; por eso se utilizan para destruir microorganismos presentes en el aire y superficies.

La radiación ultravioleta produce una disminución exponencial en el número de células vegetativas o de esporas vivas con el tiempo de irradiación. El mayor valor del tratamiento con radiaciones se encuentra en el saneamiento del aire, aunque también pueden aplicarse para esterilizar superficies de alimentos o para el equipo de los manipuladores de alimentos.

La radiación ionizante es altamente letal, puede ajustarse su dosis para producir efectos pasteurizantes o esterilizantes y su poder de penetración es uniforme. Es letal por destrucción de moléculas vitales de los microorganismos, esto los consigue sin producción de calor, por lo que los alimentos se conservan frescos. La mayoría de los daños son a nivel ADN. Las bacterias Gram-negativas son generalmente más sensibles a la irradiación que las Gram-positivas y las esporas aún más resistentes.

## **D. CLASIFICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS**

### **1. Escherichia coli.**

Revilla A. (1996), manifiesta que es una bacteria que habita normalmente en el intestino del hombre y animales de sangre caliente, y desempeña un importante papel en la fisiología del intestino. La distribución en el ambiente está determinada por su presencia en el intestino.



Por ser un habitante regular y normal del intestino se usa desde hace un siglo como “el mejor” indicador de contaminación con materia fecal de los alimentos. En este caso indica la contaminación con bacterias perjudiciales o patógenas para el hombre que tienen un hábitat común, como por ej., Salmonella.

Recién en la década del 40 del siglo pasado se descubrió que algunas diarreas de los niños se producían por algunos tipos particulares –serovariedades o serotipos- de E.coli.

#### **a. Caracterización de los microorganismos.**

[https://docs.google.com/viewer?a=Escherichia-coli-O157-f5PQ0YLh1aiRAJAHf\\_G-4r5BWXHwx&sig=AHIEtbTNV71QM0zjV-8oGd-CAZujoRXYMg](https://docs.google.com/viewer?a=Escherichia-coli-O157-f5PQ0YLh1aiRAJAHf_G-4r5BWXHwx&sig=AHIEtbTNV71QM0zjV-8oGd-CAZujoRXYMg). (2003), manifiesta que los microorganismos se clasifican gracias a la expresión de su genoma (material genético). Desde tiempo atrás se usa la clasificación bioquímica o fisiológica y también, la serológica para diferenciar las distintas especies y diferentes serovariedades de una misma especie.

El procedimiento serológico se basa en las diferencias antigénicas (capacidad de producir anticuerpos diferentes) por la superficie (cuerpo de la bacteria que constituye el antígeno O) y los flagelos (son los antígenos H) de bacterias de una misma especie. Así, se establecen las serovariedades.

Hoy en día se dispone de ensayos genéticos que clasifican los microorganismos al detectar porciones que no varían del genoma o de otras estrategias que amplían las porciones del genoma que se quieren identificar; este tipo de ensayos están reservados a laboratorios de media y alta complejidad.

Clasificación de E.coli según mecanismo para enfermar E. coli patógenas se agrupan según el tipo de enfermedad que producen en el hombre y en los animales

## b. Parámetros que regulan el desarrollo

Todas son miembros de la familia Enterobacteriaceae, bacterias Gram negativas y no esporuladas. Es decir, de sencilla destrucción con el calor de la pasteurización.

Los parámetros que regulan el desarrollo de las bacterias se indican en el cuadro 3.

Cuadro 3. PARÁMETROS QUE REGULAN EL DESARROLLO.

	Mínima	Óptima	Máxima
Temperatura °C	7-8	35 – 40	44 – 46
pH	4.4	6a7	9.0
Actividad de agua	0.95	0.995	-

Fuente: [https://docs.google.com/viewer?a=Escherichia-coli-O157-OYLh1aiRAJAHf\\_G-r5BWXHwx&sig=AHIEtbTNV71QM0zjV-8oGd-CAZujoRXYMg](https://docs.google.com/viewer?a=Escherichia-coli-O157-OYLh1aiRAJAHf_G-r5BWXHwx&sig=AHIEtbTNV71QM0zjV-8oGd-CAZujoRXYMg) (2003)

## 2. Salmonella.

Larraña, I. (1999), indica que Son bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos con flagelos perotricos, quimiorganotrofos, con un metabolismo oxidativo fermentativo. Son productores de ácido y frecuente de gas durante la fermentación de glucosa.

<http://es.wikipedia.org/wiki/Salmonella>. (2000), manifiesta que: Salmonella es un bacilo patógeno primario (como Shigella, Yersinia y ciertas cepas de E. coli), anaerobio facultativo, algunos móviles y no fermentan la lactosa. S. typhi es la única serovariedad que no produce gas en la fermentación de los azúcares.

Clásicamente se distinguían tres únicas especies patógenas primarias: S. typhi, S. cholerae-suis y S. enteritidis. dos los miembros de este género son patógenos potenciales. Son habitantes comunes del tracto intestinal de muchos animales, especialmente aves de corral y ganado vacuno y bajo condiciones sanitarias inadecuadas pueden contaminar los alimentos. Tortora, J. (1993).

### **3. Staphylococcus aureus.**

Según <http://www.food-info.net/es/bact/staur.htm>. (2012), es una bacteria esférica (coco), que al ser examinada en el microscopio aparece agrupada en conjuntos de a dos (pares), en cadenas cortas o en grupos en forma de racimos de uva. Estos organismos son Gram-positivos. Algunas cepas son capaces de producir una toxina proteica muy estable al calor que causa enfermedades en los humanos.

El envenenamiento alimentario causado por Staphylococcus es el nombre dado a la condición causada por las enterotoxinas producidas por algunas cepas de S. aureus. La aparición de los síntomas de esta intoxicación es usualmente rápida y en la mayoría de los casos severa, dependiendo de la susceptibilidad individual a la toxina, de la cantidad de alimentos contaminados ingeridos, de la cantidad de toxinas presentes en los alimentos consumidos y de la salud general del hospedero.

### **4. Conteo de células somáticas (CCS).**

Las células somáticas son en un 98% los glóbulos blancos que llegan a la leche para controlar la presencia de organismo extraños en la ubre, en especial bacterias causantes de mastitis; el otro 2% está compuesto de célula epitelial cuando aparece un gran número de células somática en la leche significa que hay infección en la ubre producida por la mastitis.

La leche sana es aquella que tiene menos de 200,000 células somáticas.

### **5. Petrifilm.**

[http://blamis.com.co/index.php?option=com\\_content&view=article&id=119&Itemid=10](http://blamis.com.co/index.php?option=com_content&view=article&id=119&Itemid=10)

4. (2008), dice que las placas petrifilm son sinónimo de efectividad y eficiencia. Reducen tiempos y estandarizan el desarrollo de pruebas microbiológicas son placas listas para uso que consisten en una película plástica cubierta de nutrientes y agentes gelificantes. Permiten ahorrar trabajo dentro del laboratorio, lo cual permite un mayor tiempo de dedicación al monitoreo de los puntos críticos de

control. Estas igualmente ayudan a mantener unos costos reducidos, todo esto genera que las placas Petrifilm contribuyan una mayor productividad.

Los pasos para utilizar estas placas son:

- Inoculación
- Incubación
- Lectura

### **E. coli:**

[http://multimedia.3m.com/mws/mediawebserver?mwsId=66666UuZjcFSLXTtMxMy5xfyEVuQEcuZgVs6EVs6E666666&fn=PEC%20Interp%20Guide\\_spa.pdf](http://multimedia.3m.com/mws/mediawebserver?mwsId=66666UuZjcFSLXTtMxMy5xfyEVuQEcuZgVs6EVs6E666666&fn=PEC%20Interp%20Guide_spa.pdf) Almacenamiento. (2002), dice que es capaz de crecer en medios conteniendo los nutrientes del Violeta Rojo Bilis (VRB). La mayoría de E. coli (aprox. el 97%) producen beta-glucuronidasa, que reacciona con un indicador (colorante) presente en la placa Petrifilm E. Coli y que hace que la colonia sea de color azul a rojo-azul. Aproximadamente el 95% de E. coli producen gas a partir de la lactosa, lo que viene indicado como colonias asociadas (aproximadamente el diámetro de una colonia) a gas atrapado. Las colonias de E.coli aparecen de color azul a rojo-azul y producen gas; confirmar las colonias de color azul a rojo-azul sin gas.

### **Interpretación.**

- Coli: colonias azules con gas.
- Coliformes confirmados: todas las colonias con gas (azules y rojas).

### **Levaduras y Mohos.**

Hacer un recuento con placas Petrifilm Levaduras y Mohos es fácil. Contienen un indicador colorante para levaduras y mohos para proporcionar contraste y facilitar el recuento.

Para diferenciar las colonias de levaduras y mohos en las placas Petrifilm Levaduras y Mohos, buscar una o más de las siguientes características típicas:

### **Levaduras.**

- Colonias pequeñas.
- Las colonias tienen bordes definidos.
- De color rosa-tostado a azul-verdoso.
- Las colonias pueden aparecer alzadas ("3D").
- Generalmente no tienen un foco (centro negro) en el centro de la colonia.

### **Mohos.**

- Colonias grandes.
- Las colonias tienen bordes difusos.
- Color variable (los mohos pueden producir sus propios pigmentos).
- Las colonias son planas.
- Generalmente con un foco en el centro de la colonia.
- Las colonias en la figura I son ejemplos de levaduras características: colonias pequeñas, de color azul-verdoso, con bordes definidos y sin foco.

### **Staphylococcus Aureus.**

Contiene un sistema de medio de cultivo preparado. El medio cromogénico de Baird-Parker modificado de la placa es selectivo y diferencial para *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* aparece como colonias rojo-violeta.

### **Recuento de colonias.**

Después de 24 h. de incubación de las placas, si únicamente aparecen colonias de color rojo-violeta, proceder al recuento.

Contar todas las colonias rojo-violeta como *Staphylococcus aureus*.

Usar una lupa iluminada para una más fácil visualización de las colonias.

**Detección de Mastitis (California mastitis Test).**

Según Dubach J. (1988), este es un método para la determinación semicuantitativa del número de leucocitos en la leche, de cada uno de los cuartos mamarios. Existe una estrecha correlación entre el grado de reacción y el número de leucocitos.

Cuando la leche se presenta ligeramente positiva, recolectar en un recipiente separado y llevarla a la quesera donde debe ser pasteurizada, antes de utilizarla. En este caso hay que hacer un tratamiento a la vaca, que consiste en una limpieza y un ordeño a fondo bien realizado diariamente. No se recomienda el uso de antibióticos. Cuando la leche se presenta fuertemente positiva, nunca se debe mezclar con el resto de leche, debiendo recolectarse en un recipiente separado. Se debe hervir para utilizarla como alimento de los animales. Para un mejor tratamiento consulte al veterinario.

**Resultados:**

**Leche normal:** Líquido homogéneo de color amarillo.

**Ligeramente positiva:** Presenta pequeños coágulos y una coloración verde claro.

**Fuertemente positiva:** Hay una coagulación completa y una coloración verde claro.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS.**

#### **A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO.**

La presente investigación se desarrolló en la Planta de Lácteos Tunshi perteneciente a la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH); ubicada en la comunidad de Tunshi San Nicolás, de la parroquia Licto, cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo, mientras que los análisis microbiológicos se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH); ubicada en la panamericana Sur km 1 ½.

La duración del trabajo experimental fue de 120 días que consistió en un diagnóstico (antes); elaboración de un manual de capacitación (durante) análisis microbiológicos y vida de anaquel del producto (después), que corresponde al control microbiológico de la leche, control microbiológico de al cuajada y control microbiológico del queso fresco respectivamente.

En el cuadro 4, se describe las características meteorológicas de Tunshi San Nicolás.

**Cuadro 4. CARACTERÍSTICAS METEOROLÓGICAS DE TUNSHI SAN NICOLÁS.**

Parámetros	Promedio
Temperatura	12° - 16°C
Latitud sur	01°45'00"
longitud Oeste	78°37'00"
Precipitación	417 mm
Humedad relativa %	64

Fuente: Estación meteorológica, Facultad de Recursos Naturales ESPOCH. (2012).

## **B. UNIDADES EXPERIMENTALES.**

Las unidades experimentales que se examinaron estuvieron conformadas por 3 muestras de leche cruda, 3 muestras de cuajada y 3 muestras de queso fresco con 4 repeticiones para el antes y después.

El tamaño de la unidad experimental fue de 500ml de leche, 500g de cuajada y 500g de producto final.

## **C. MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES.**

Los materiales y equipos que se utilizaron fueron los siguientes:

### **1. En el campo.**

- Instrumentos de muestreo.
- Frascos estériles para muestras.
- Libreta de apuntes.
- Un termo para el transporte de muestras.

### **2. En el laboratorio.**

- Cajas petri.
- Tubos de ensayo.
- Estufa.
- Espátula.
- Frascos termo resistentes.
- Pipetas.
- Cuenta colonias.
- Botrex.
- Agitador magnético.



- Balanza analítica.
- Mechero bunsen.
- Pinzas.
- Cotonetes.
- Gradillas.
- Asas de cultivos.
- Refrigeradora.
- Vasos de precipitación.
- Baño maría.
- Papel filtro.
- Petrifilm para Staphylococcus aureus, E. coli, Hongos.
- Material de protección.
- Estanterías.

### **3. Reactivos.**

- Agar Salmonella Shigela.
- Agua destilada.
- CMT.
- Material de limpieza y desinfección.

### **4. Instalaciones.**

- Sala de Ordeño.
- Planta de lácteos.
- Laboratorio de Microbiología.
- Aula de capacitación.

## D. TRATAMIENTO Y DISEÑO EXPERIMENTAL

En la presente investigación no tiene un diseño experimental definido por cuanto se consideró un muestreo aleatorio simple para determinar la carga bacteriana de la leche, cuajada y queso Fresco – EPOCH.

En el cuadro 5, se explica el esquema del experimento.

Cuadro 5. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO.

Tratamientos	Código	Repeticiones	T.U.E.	Total
Antes	T1	4	500 g	2000g
Después	T2	4	500 g	2000g
Total g. 6000g.				

T.U.E. tamaño de la unidad experimental 500ml de leche cruda, 500g de la cuajada y 500g de queso fresco, respectivamente.

## E. MEDICIONES EXPERIMENTALES.

- Salmonella en 25g.
- Staphylococcus aureus UFC/g.
- Escherichia coli, UFC/g.
- Hongos.
- Determinación de células somáticas.

## F. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA.

- Media.
- Desviación estándar.
- T de Student.

## G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

En esta investigación se realizó el siguiente procedimiento:

## 1. Antes.

Se tomó 500 ml. de leche fría y caliente, 500g. de cuajada y 500g. de queso, previamente se aplicó el muestreo aleatorio simple y seguidamente se transportó en envases estériles al laboratorio de Microbiología de los alimentos.

En el laboratorio se esterilizó todos los materiales como pipetas, tubos de ensayos cajas Petri, espátula, papel filtro y se tomó 9ml de agua destilada y 1ml de leche para realizar una dilución y se le introducía a la estufa por 24 horas, luego la muestra que se dejó en dilución, con la ayuda de una pipeta se tomó 1ml y se procede a colocar en la placa petrifilm respectiva para determinar E. coli, Staphylococcus aureus y Hongos.

Para determinar Salmonella primero se procedió a esterilizar todo el material que se va a utilizar y luego se preparó 60 gramos de agar ss por litro de agua destilada, se deja reposar cinco minutos y se homogeniza, seguidamente se debe calentar a ebullición durante 2 a 3 minutos, a este tipo de agar no se debe esterilizar en el autoclave, luego se deja enfriar de 45 – 50°C en baño maría y se le distribuye 10ml en cada placa.

El procedimiento que se aplicó para la siembra fue:

Primero colocar la caja Petri sobre una superficie plana y con cotonete se tomaba la muestra y se realizaba un frotis sobre el medio de cultivo y un asa de cultivo circular se realiza la siembra por estrías.

Tanto las placas petrifilm como el medio de cultivo se llevan a la estufa y se colocan de acuerdo a los microorganismos a analizar como es para E. coli y Staphylococcus aureus y Salmonella a 37°C por 24 horas, para mohos y levaduras se debe incubar de 2 a 3 días a 25°C.

Una vez transcurrido el tiempo de incubación de cada uno de estos microorganismos se procedió a colocar a la placa petrifilm y a la caja Petri en el cuenta colonias y se procede al conteo, una vez que ya se obtuvo los resultados se utilizó la siguiente fórmula para determinar en UFC:

# de mo  $\times 10^{-1}$  (0.1)

**Ejemplo:**

$400 \times 0.1 = 40 \text{ UFC}$

Para determinar células somáticas se tomó 2ml de leche y 2ml de CMT se le homogeniza.

**2. Durante.**

Aquí se realizó un manual de calidad de la leche que servirá para las capacitaciones que se dictó a los proveedores de leche y los trabajadores de la planta

**3. Después.**

Se tomó 500 ml. de leche fría y caliente, 500g. de cuajada y 500g. de queso, previamente se aplicó el muestreo aleatorio simple y seguidamente se transportó en envases estériles al laboratorio de Microbiología de los alimentos.

En el laboratorio se esterilizó todos los materiales como pipetas, tubos de ensayos cajas Petri, espátula, papel filtro y se tomó 9ml de agua destilada y 1ml de leche para realizar una dilución y se le introducía a la estufa por 24 horas, luego la muestra que se dejó en dilución, con la ayuda de una pipeta se tomó 1ml y se procede a colocar en la placa petrifilm respectiva para determinar E. coli, Staphylococcus aureus y Hongos.

Para determinar Salmonella primero se procedió a esterilizar todo el material que se va a utilizar y luego se preparó 60 gramos de agar ss por litro de agua destilada, se deja reposar cinco minutos y se homogeniza, seguidamente se debe calentar a ebullición durante 2 a 3 minutos, a este tipo de agar no se debe esterilizar en el autoclave, luego se deja enfriar de 45 – 50°C en baño maría y se le distribuye 10ml en cada placa.

El procedimiento que se aplicó para la siembra fue:

Primero colocar la caja Petri sobre una superficie plana y con cotonete se tomaba la muestra y se realizaba un frotis sobre el medio de cultivo y un asa de cultivo circular se realiza la siembra por estrías.

Tanto las placas petrifilm como el medio de cultivo se llevan a la estufa y se colocan de acuerdo a los microorganismos a analizar como es para E. coli y Staphylococcus aureus y Salmonella a 37°C por 24 horas, para mohos y levaduras se debe incubar de 2 a 3 días a 25°C.

Una vez transcurrido el tiempo de incubación de cada uno de estos microorganismos se procedió a colocar a la placa petrifilm y a la caja Petri en el cuenta colonias y se procede al conteo, una vez que ya se obtuvo los resultados se utilizó la siguiente fórmula para determinar en UFC:

$$\# \text{ de m.o} \times 10^{-1} (0.1)$$

**Ejemplo:**

$$400 \times 0.1 = 40 \text{ UFC.}$$

Para determinar células somáticas se tomó 2ml de leche y 2ml de CMT se le homogeniza.

**H. METODOLOGÍA DE LA EVALUACIÓN.**

**1. Escherichia coli, UFC/g.**

Utilizando la técnica de las placas petrifilm se pudo determinar presencia de escherichia coli en leche, cuajada y queso fresco que se elabora en Planta de Lácteos de Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH, después de haber transcurrido 24 horas se logró obtener los siguientes resultados:

**ANTES:**

**LECHE FRÍA:**

- **Media:** 60,25 UFC/g

- **Desviación estándar:** 47.12

**LECHE CALIENTE:**

- **Media:** 22,88UFC/g
- **Desviación estándar:** 18,6

**CUAJADA:**

- **Media:** 4,75UFC/g
- **Desviación estándar:** 4,43

**QUESO:**

- **Media:** 2UFC/g
- **Desviación estándar:** 2,83

**DESPUES:**

**LECHE FRÍA:**

- **Media:** 17.50 UFC/g
- **Desviación estándar:** 23.63

**LECHE CALIENTE:**

- **Media:** 5UFC/g
- **Desviación estándar:** 5.77

**CUAJADA:**

- **Media:** 0.25UFC/g
- **Desviación estándar:** 0.50

**QUESO:**

- **Media:** 0UFC/g
- **Desviación estándar:** 0

## **2. Staphylococcus aureus UFC/g**

De la misma manera, utilizando la técnica de las placas petrifilm se pudo determinar presencia de Staphylococcus aureus en leche, cuajada y queso fresco que se elabora en Planta de Lácteos de Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH, teniéndose que esperar 24 horas para obtener los siguientes resultados:

### **ANTES:**

#### **LECHE FRÍA:**

- **Media:** 104.50 UFC/g
- **Desviación estándar:** 78.43

#### **LECHE CALIENTE:**

- **Media:** 62.13UFC/g
- **Desviación estándar:** 32.72

#### **CUAJADA:**

- **Media:** 9.255UFC/g
- **Desviación estándar:** 1.5

#### **QUESO:**

- **Media:** 9UFC/g
- **Desviación estándar:** 2

### **DESPUES:**

#### **LECHE FRÍA:**

- **Media:** 12.63 UFC/g
- **Desviación estándar:** 14.86

#### **LECHE CALIENTE:**

- **Media:** 15.25UFC/g

- **Desviación estándar:** 19.24

**CUAJADA:**

- **Media:** 0.25UFC/g
- **Desviación estándar:** 0.50

**QUESO:**

- **Media:** 0.50UFC/g
- **Desviación estándar:** 0.58

**3. Salmonella en 25g**

Para realizar la determinación de salmonella presente en la leche, cuajada y queso fresco que se elabora en Planta de Lácteos de Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH se utilizó el medio de cultivo agar Salmonella Shigela, teniéndose que esperar 24 horas para obtener los siguientes resultados:

**ANTES:****LECHE FRÍA:**

- **Media:** 25 UFC/g
- **Desviación estándar:** 17.80

**LECHE CALIENTE:**

- **Media:** 12.35 UFC/g
- **Desviación estándar:** 9.30

**CUAJADA:**

- **Media:** 0UFC/g
- **Desviación estándar:** 0

**QUESO:**

- **Media:** 0UFC/g



- **Desviación estándar: 0**

**DESPUES:****LECHE FRÍA:**

- **Media: 0 UFC/g**
- **Desviación estándar: 0**

**LECHE CALIENTE:**

- **Media: 0UFC/g**
- **Desviación estándar: 0**

**CUAJADA:**

- **Media: 0UFC/g**
- **Desviación estándar: 0**

**QUESO:**

- **Media: 0UFC/g**
- **Desviación estándar: 0**

**4. Hongos.**

Utilizando la técnica de las placas petrifilm se pudo determinar presencia de Hongos en la cuajada antes de la capacitación, teniéndose que esperar 24 horas para obtener los siguientes resultados:

**ANTES:****LECHE FRÍA:**

- **Media: 0 UFC/g**
- **Desviación estándar: 0**

**LECHE CALIENTE:**

- **Media:** 0 UFC/g
- **Desviación estándar:** 0

**CUAJADA:**

- **Media:** 1.75UFC/g
- **Desviación estándar:** 2.36

**QUESO:**

- **Media:** 0UFC/g
- **Desviación estándar:** 0

**DESPUES:****LECHE FRÍA:**

- **Media:** 0 UFC/g
- **Desviación estándar:** 0

**LECHE CALIENTE:**

- **Media:** 0UFC/g
- **Desviación estándar:** 0

**CUAJADA:**

- **Media:** 0UFC/g
- **Desviación estándar:** 0

**QUESO:**

- **Media:** 0UFC/g
- **Desviación estándar:** 0

## **5. Determinación de células somáticas.**

Para determinar células somáticas se utilizó la Prueba del CMT que consiste en añadir 2ml de reactivo California Mastitis Test en 2 ml de leche en una probeta, se homogeniza y se observa los resultados:

**Antes:**

**Leche Fría:**

+++ : Fuertemente positivo.

**Leche Caliente:**

++ : Ligeramente positivo.

**Después.**

**Leche Fría:**

+ : Positivo.

**Leche Caliente:**

+ : Positivo.

## **IV. RESULTADOS Y DISCUSION.**

Los resultados que se obtuvieron al analizar salmonella, E. coli, staphylococcus aureus, Hongos y células somáticas en la Evaluación de la calidad microbiológica de la cadena productiva del queso fresco "ESPOCH" se resume en los siguientes cuadros, cuyos resultados se detallan a continuación.

### **A. ANÁLISIS DE LA LECHE FRÍA.**

#### **1. Salmonella.**

La presencia de Salmonella en la leche fría en la estación experimental Tunshi de la ESPOCH fue evidente, y la que reporto una media de 25UFC/25ml y una desviación

estándar de  $\pm 17.80\text{UFC}/25\text{ml}$ , en consecuencia de estos valores altos fue necesario realizar una capacitación en Buenas prácticas de Ordeño al personal involucrado con este alimento, una vez realizada la capacitación se obtuvo los siguientes valores, expresados por una media y una desviación estándar de 0, demostrándose que fue posible controlar en su totalidad la presencia de esta bacteria patógena.

Mediante los cálculos realizados en esta investigación se obtiene un T Calculado de 2,81 y una probabilidad de 0,02% la cual presenta diferencias significativas lo que explica que utilizar estrategias de capacitación con temas de fundamental importancia sobre la inocuidad de alimentos, la asepsia en los pasos de obtención de la leche, principalmente en el ordeño permite controlar la presencia de patógenos como la salmonella que es una bacteria que causa problemas de disentería principalmente cuando es consumida sin hacer hervir.

De acuerdo a la Norma INEN 9, que señala que en la leche cruda debe existir ausencia de salmonella ya que este microorganismo causa serios problemas en la salud del consumidor.

Mercosur (2000), Indica que salmonella debe estar ausente en todos los productos lácteos ya que causa enfermedades cuando se la consume cruda por lo que es recomendable pasteurizar a la leche.

A continuación se detalla en el cuadro 6, la presencia de salmonella en la leche fría cruda de la estación experimental Tunshi – Espoch.

Cuadro 6. PRESENCIA DE SALMONELLA EN LA LECHE FRÍA CRUDA DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI - ESPOCH.

Leche Fría	Antes		Después		T cal	Proba	Sign
	Media	D.E	Media	D.E			
Salmonella	25,00	$\pm 17,80$	0	$\pm 0,00$	2,81	0,02	*
Staphylococcus	104,50	$\pm 78,43$	12,63	$\pm 14,86$	2,30	0,03	*
E. Coli	60,25	$\pm 47,12$	17,50	$\pm 23,63$	1,62	0,08	Ns
Hongos	0	$\pm 0$	0	$\pm 0$	0	0	

Fuente: Vayas, G. (2012).

Ns: No significativo ( $P \geq 0.05$ ).

\*: Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

\*.\*Diferencias altamente significativa ( $P \leq 0.1$ ).

D.E: Desviación estándar.  
 T.cal: T Calculado  
 Proba: Probabilidad.  
 Sign: Significancia.

En el gráfico 2, se demuestra la Presencia de salmonella de la leche fría de la planta de lácteos.

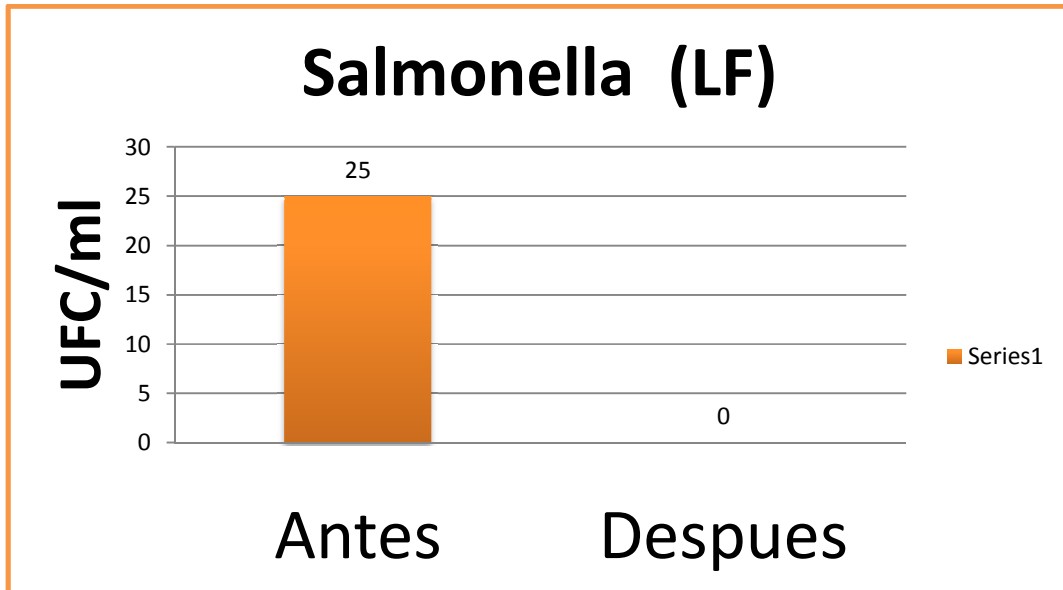


Gráfico 2. Presencia de salmonella de la leche fría de la planta de lácteos ESPOCH.

## 2. Staphylococcus.

La presencia de Staphylococcus en la leche fría en la ganadería lechera de la Facultad de Ciencias Pecuarias antes de aplicar el proceso de capacitación en la cadena productiva de la leche se determinó presencia en un nivel de  $104.50 \pm 78.43$  UFC/ml las mismas que con ayuda de la capacitación se redujo a  $12.63 \pm 14.86$  UFC/ml existiendo diferencias significativas, con un Tal de 2.30 y una probabilidad del 0.03% lo que nos indica que la capacitación dio muy buenos resultados.

Moscoso, J. (2011), en su investigación se identificó Staphylococcus en todas las fincas en estudio, principalmente en Chacuray, encontrándose una carga de  $56525.00 \pm 27367$  colonias/ml, luego de someter a un tratamiento con tintura de ajo como sellador logró reducir este tipo de microorganismos a  $237.50 \pm 260$ ,

respectivamente, valores todavía altos con respecto a la presente investigación, esto quizá se deba a que en la presente institución, de alguna manera se controla la asepsia en todos los procesos, gracias al permanente control que se realiza.

A continuación en el cuadro 7, se describe la Presencia de staphylococcus aureus leche fría cruda de la estación experimental Tunshi - Espoch.

Cuadro 7. PRESENCIA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS LECHE FRÍA CRUDA DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI - ESPOCH.

Leche Fría	Antes		Después		T cal	Proba	Sign
	Media	D.E	Media	D.E			
Salmonella	25,00	± 17,80	0	± 0,00	2,81	0,02	*
Staphylococcus	104,50	± 78,43	12,63	± 14,86	2,30	0,03	*
E. Coli	60,25	± 47,12	17,50	± 23,63	1,62	0,08	ns
Hongos	0	± 0	0	± 0	0	0	

Fuente: Vayas, G. (2012).

Ns: No significativo ( $P \geq 0.05$ ).

\*: Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

\*.\*Diferencias altamente significativa ( $P \leq 0.1$ )

D.E: Desviación estándar.

T.cal: T Calculado.

Proba: Probabilidad.

Sign: Significancia.

En el gráfico 3, se puede verificar la Presencia de sthapylococcus de la leche fría de la planta de lácteos ESPOCH.

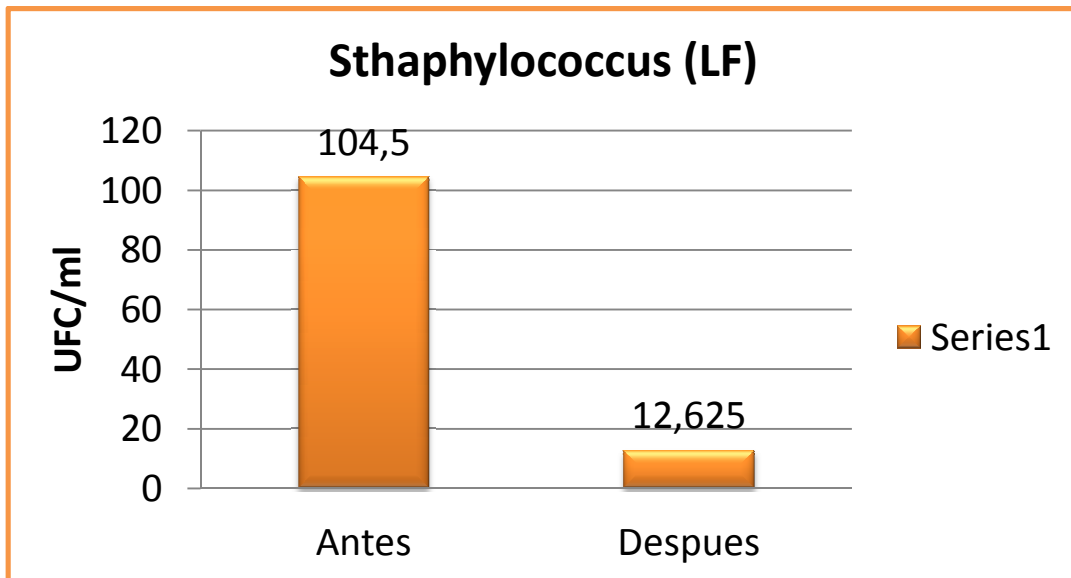


Gráfico 3. Presencia de sthapylococcus de la leche fría de la planta de lácteos ESPOCH.

### 3. Escherichia Coli.

Antes de aplicar el programa de capacitación en el Programa de Bovinos de leche, se determinó presencia de Escherichia coli en la leche fría en una cantidad de  $60.25 \pm 47.12$  UFC/ml, a pesar de no existir diferencias significativas, este tipo de microorganismos se redujeron a  $17.50 \pm 23.63$  UFC/ml después de aplicar un programa de capacitación, lo que significa que es necesario mejorar los procesos de obtención de leche puesto que no se puede consumir la leche cruda debido a que esta puede provocar problemas digestivos en los consumidores.

Moscoso J. (2011), señala que la presencia de Escherichia coli únicamente se registró en la finca "El Castillo" antes de la aplicación de la tintura de ajo una población de  $18750.00 \pm 53033$  colonias/ml, la misma que se redujo a  $25.00 \pm 25$  colonias/ml luego de haber aplicado la tintura de ajo, de esta manera se puede señalar que en la presente investigación, este tipo de microorganismos es bajo, gracias a las sugerencias de los trabajos experimentales y la permanente recomendación en cuanto a la aplicación de BPM y BPO que de alguna manera

hacen que la calidad de la leche se garantice aunque todavía es necesario mejorar los medios para encontrarse dentro de los estándares de las Normas INEN.

Según Carrión A. (2008), reporta que en la leche comúnmente se identifica Coliformes totales, Escherichia coli y levaduras, aceptándose 8.67 UFC/ml de Coliformes totales, 2.33 UFC/ml de Escherichia coli, por los que es necesario establecer un programa de control de microorganismos, actividad que permite garantizar la calidad de la leche y los productos.

En el cuadro 8, se detalla la presencia de Escherichia coli en la leche fría cruda de la estación experimental Tunshi - Espoch.

Cuadro 8. PRESENCIA DE ESCHERICHIA COLI EN LA LECHE FRÍA CRUDA DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI - ESPOCH.

Leche fría	Antes		Después		T cal	Proba	Sign
	Media	D.E	Media	D.E			
Salmonella	25,00	± 17,80	0	± 0,00	2,81	0,02	*
Staphylococcus	104,50	± 78,43	12,63	± 14,86	2,30	0,03	*
E. Coli	60,25	± 47,12	17,50	± 23,63	1,62	0,08	ns
Hongos	0	± 0	0	± 0	0	0	

Fuente: Vayas, G. (2012).

Ns: No significativo ( $P \geq 0.05$ ).

\*: Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

\*.\*Diferencias altamente significativa ( $P \leq 0.1$ )

D.E: Desviación estándar.

T.cal: T Calculado.

Proba: Probabilidad.

Sign: Significancia.

En el Gráfico 4, se muestra la presencia de Escherichia Coli de la leche fría de la planta de lácteos ESPOCH.



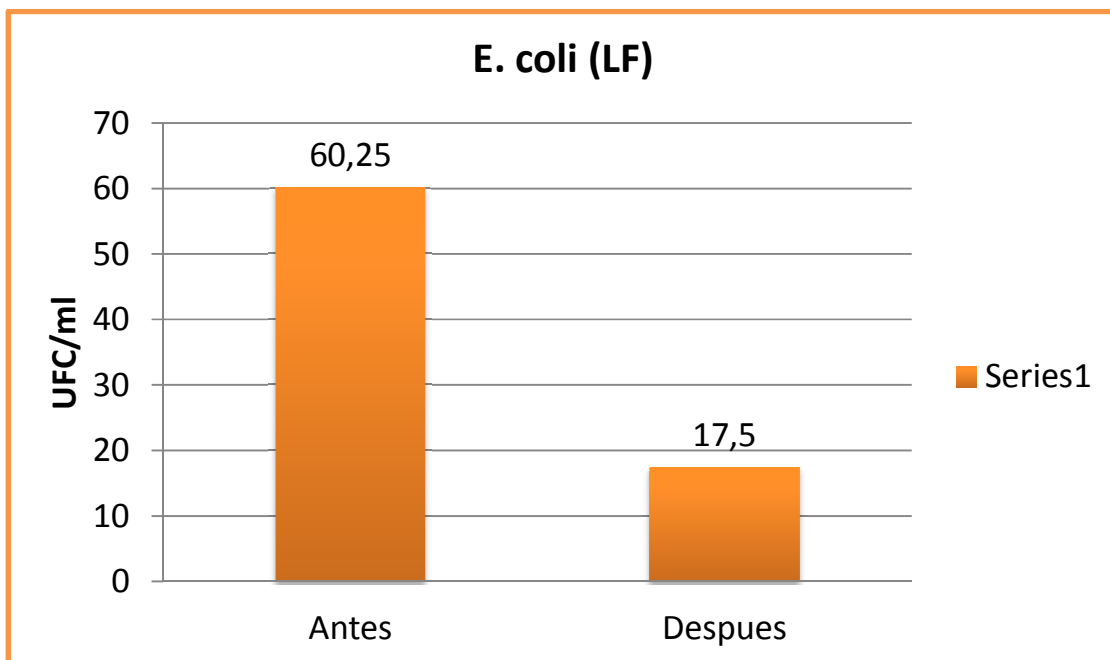


Gráfico 4. Presencia de Escherichia Coli de la leche fría de la planta de lácteos ESPOCH.

#### 4. Células Somáticas.

La presencia de células somáticas en la leche fría antes y después de desarrollar el proceso de capacitación en la cadena productiva fue evidente, lo que significa que la leche posee microorganismos en la misma glándula mamaria, por lo que no se pudo controlar, puesto que el manejo sanitario corresponde a un control de carácter veterinario, de esta manera se puede mencionar que, iniciando con la presencia de microorganismos que causan no solo problemas en los consumidores, sino que influyen directamente en la producción de leche tanto en cantidad en un 65% como en calidad afectando a las propiedades de los componentes de la leche y consecuentemente en la rentabilidad.

Díaz A. (2009), manifiesta que:

- +++ Infección seria
- ++ Infección leve
- + Positivo

A continuación en el cuadro 9, se especifica la presencia de células somáticas en la leche fría cruda de la estación experimental Tunshi - Espoch.

Cuadro 9. PRESENCIA DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN LA LECHE FRÍA CRUDA DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI - ESPOCH.

Antes	+++	Fuertemente positivo
Después	+	Positivo

Fuente: Vayas, G. (2012).

## 5. Hongos.

Al analizar la presencia de hongos en la leche fría del Programa de bovinos de leche de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH, no se determinó este tipo de microorganismos, esto se debe a que los hongos requieren de un período de tiempo de varios días para multiplicarse, de esta manera en la leche definitivamente es difícil que se puede identificarse puesto que la leche se comercializa inmediatamente.

En el cuadro 10, se detalla la Presencia de hongos en la leche fría cruda de la estación experimental Tunshi – Espoch.

Cuadro 10. Presencia de hongos en la leche fría cruda de la estación experimental Tunshi - Espoch.

Leche Fría	Antes		Después		T cal	Proba	Sign
	Media	D.E	Media	D.E			
Salmonella	25,00	± 17,80	0	± 0,00	2,81	0,02	*
Staphylococcus	104,50	± 78,43	12,63	± 14,86	2,30	0,03	*
E. Coli	60,25	± 47,12	17,50	± 23,63	1,62	0,08	ns
Hongos	0	± 0	0	± 0	0	0	

Fuente: Vayas, G (2012).

## B. ANÁLISIS DE LA LECHE CALIENTE.

### 1. Salmonella.

En la leche caliente del Programa de Bovinos de leche antes de someter al proceso de capacitación en la cadena productiva del queso fresco – Espoch, se identificó la

presencia de salmonella en  $12.35 \pm 9.30$  UFC/ 25 ml, a pesar de que presenta diferencias altamente significativas con un t calculado de 2.66 y una probabilidad del 0.02% se pudo controlar en su totalidad el crecimiento de la salmonella, en razón de que con la aplicación de la capacitación a los involucrados con la obtención de la leche, se pudo demostrar su eficacia, porque se pudo reducir este tipo de microorganismos que causan serios problemas para los consumidores.

Según la Norma INEN 9, señala que en la leche cruda debe existir ausencia de salmonella ya que este microorganismo causa serios problemas en la salud del consumidor.

Mercosur. (2000), manifiesta que la salmonella debe estar ausente en todos los productos lácteos ya que causa enfermedades cuando se la consume cruda por lo que es recomendable pasteurizar a la leche.

En el siguiente cuadro 11, se describe la presencia de salmonella en la leche caliente de la planta de lácteos de Tunshi – Espoch.

Cuadro 11. PRESENCIA DE SALMONELLA EN LA LECHE CALIENTE DE LA PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH.

Leche Caliente	Antes		Después		T cal	Proba	Sign
	Media	D.e	Media	D.E			
Salmonella	12,35	± 9,30	0	± 0	2,66	0,02	**
Staphylococcus	62,13	± 32,72	15,25	± 19,24	2,47	0,02	*
E. Coli	22,88	± 18,6	5	± 5,77	1,84	0,06	ns
Hongos	0	± 0	0	± 0	0	0	

Fuente: Vayas, G. (2012).

ns: No significativo ( $P \geq 0.05$ ).

\*: Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

\*. Diferencias altamente significativa ( $P \leq 0.1$ ).

D.E: Desviación estándar.

T.cal: T Calculado

Proba: Probabilidad.

Sign: Significancia.

En el gráfico 5, se verifica la Presencia de salmonella de la leche caliente de la planta de lácteos ESPOCH

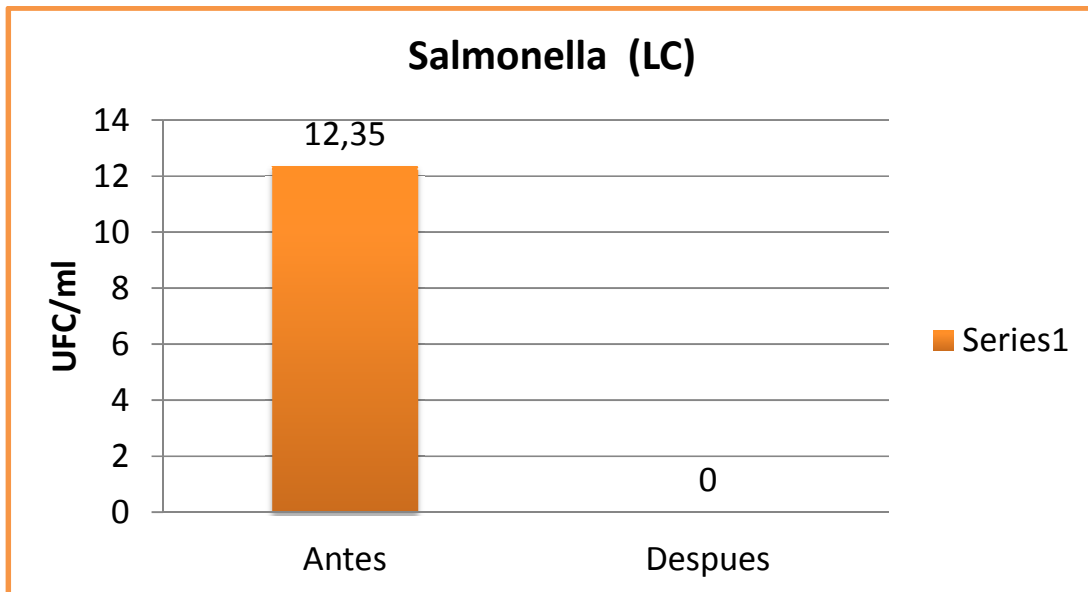


Gráfico 5. Presencia de salmonella de la leche caliente de la planta de lácteos ESPOCH

## 2. Staphylococcus.

La incidencia de Staphylococcus en la leche caliente del Programa Bovinos de leche fue evidente antes del proceso de capacitación presentando una cantidad de  $62.13 \pm 32.72$  UFC/ml, el mismo que se pudo reducir a  $15.25 \pm 19.24$  UFC/ml lo que nos quiere decir que la capacitación dio muy buen resultado porque presentó diferencias significativas con un t calculado del 2.47 y una probabilidad del 0.02% por lo tanto se debe seguir dando capacitaciones en temas relacionados con los cuidados asépticos en el momento de ordeño y demás factores que garanticen la calidad e inocuidad de la leche y sea apta para consumir.

De acuerdo a Mercosur. (2000), la leche debe tener 100 UFC/g por cada gramo de queso lo cual en esta investigación estamos por debajo de estos niveles.

En el cuadro 12, se detalla la presencia de salmonella en la leche caliente de la planta de lácteos de Tunshi – Espoch.

Cuadro 12. PRESENCIA DE SALMONELLA EN LA LECHE CALIENTE DE LA PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH.

Leche Caliente	Antes		Después		T cal	Proba	Sign
	Media	D. e	Media	D.E			
Salmonella	12,35	± 9,30	0	± 0	2,66	0,02	**
Staphylococcus	62,13	± 32,72	15,25	± 19,24	2,47	0,02	*
E. Coli	22,88	± 18,6	5	± 5,77	1,84	0,06	ns
Hongos	0	± 0	0	± 0	0	0	

Fuente: Vayas, G. (2012).

Ns: No significativo ( $P \geq 0.05$ ).

\*: Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

\*\*Diferencias altamente significativa ( $P \leq 0.1$ ).

D.E: Desviación estándar.

T.cal: T Calculado

Proba: Probabilidad.

Sign: Significancia.

En el siguiente gráfico 6, se verifica la presencia de Staphylococcus de la leche caliente de la planta de lácteos ESPOCH.

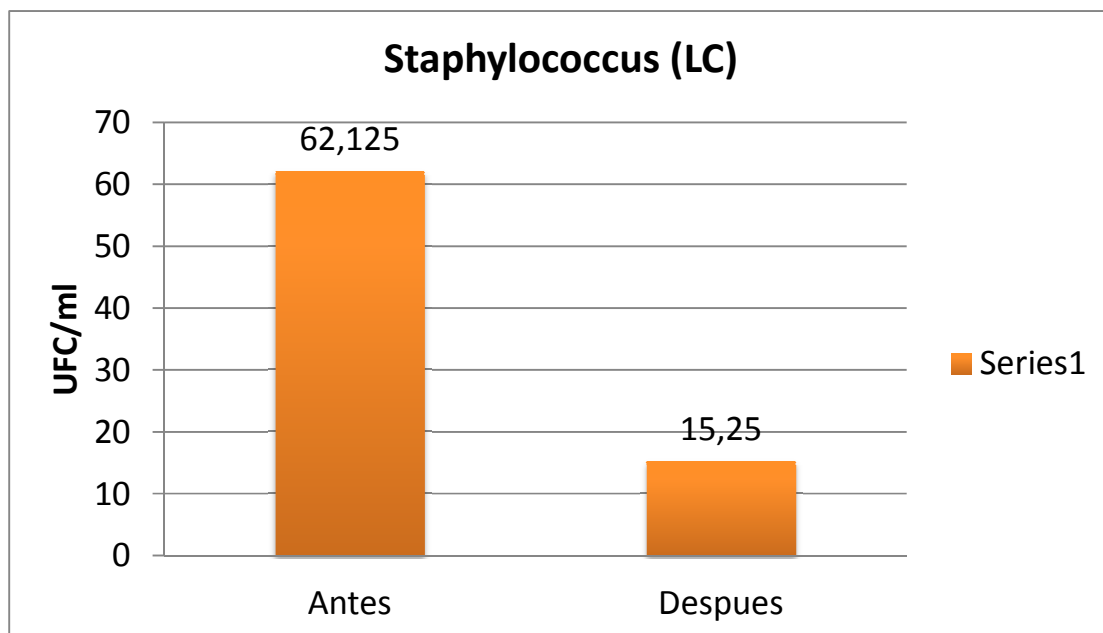


Gráfico 6. Presencia de Staphylococcus de la leche caliente de la planta de lácteos ESPOCH

### 3. Escherichia Coli.

La presencia de Escherichia coli en la leche caliente antes de aplicar el manual de control de calidad en la cadena productiva fue de  $22.88 \pm 18.6$  UFC/ml, la misma que

redujo a  $15.25 \pm 19.24$  UFC/ml, a pesar que no se registró diferencias significativas, permite manifestar que es necesario tomar medidas más rigurosas para controlar este tipo de bacterias puesto que reducen la calidad de la leche y la vida de anaquel, además este tipo de bacterias causan problemas digestivos en los consumidores.

Moscoso, J. (2011), señala que la presencia de *Escherichia coli* aplicación de la tintura de ajo una población de  $18750.00 \pm 53033$  colonias/ml, la misma que se redujo a  $25.00 \pm 25$  colonias/ml luego de haber aplicado la tintura de ajo.

Según Carrión, A. (2008), reporta que en la leche comúnmente se identifica *Escherichia coli* aceptándose 8.67 UFC/ml. Por los que es necesario establecer un programa de control de microorganismos, actividad que permite garantizar la calidad de la leche y los productos.

A continuación en el cuadro 13, se detalla la presencia de *Escherichia coli* en la leche caliente de la planta de lácteos de Tunshi - Espoch.

Cuadro 13. PRESENCIA DE *ESCHERICHIA COLI* EN LA LECHE CALIENTE DE LA PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH.

Leche Caliente	Antes		Después		T cal	Proba	Sign
	Media	D.e	Media	D.E			
Salmonella	12,35	± 9,30	0	± 0	2,66	0,02	**
Staphylococcus	62,13	± 32,72	15,25	± 19,24	2,47	0,02	*
E. Coli	22,88	± 18,6	5	± 5,77	1,84	0,06	ns
Hongos	0	± 0	0	± 0	0	0	

Fuente: Vayas, G. (2012).

Ns: No significativo ( $P \geq 0.05$ ).

\*: Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

\*. Diferencias altamente significativa ( $P \leq 0.1$ ).

D.E: Desviación estándar.

T.cal: T Calculado

Proba: Probabilidad.

Sign: Significancia.

El gráfico 7, muestra la presencia de *Escherichia coli* en la leche caliente de la planta de lácteos ESPOCH.

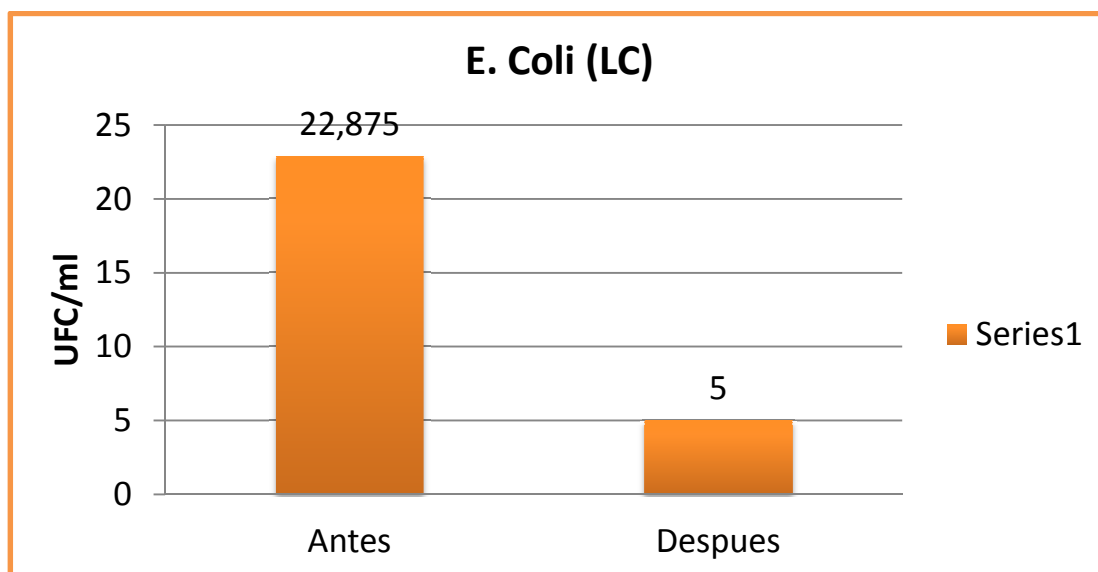


Gráfico 7. Presencia de Escherichia Coli en la leche caliente de la planta de lácteos ESPOCH.

#### 4. Células somáticas.

La presencia de células somáticas en la leche caliente es evidente antes y después del programa de capacitación, lo que permite mencionar que la leche tiene un grado leve mastitis, la misma que influye negativamente en el rendimiento productivo de las vacas.

Díaz, A. (2009) manifiesta que:

- +++ Infección seria
- ++ Infección leve
- + Positivo

A continuación en el cuadro 14, se demuestra la presencia de células somáticas en la leche caliente cruda de la estación experimental Tunshi - Espoch.

Cuadro 14. PRESENCIA DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN LA LECHE CALIENTE CRUDA DE LA ESTACION EXPERIMENTAL TUNSHI - ESPOCH.

Antes	++	Ligeramente positivo
Después	+	Positivo

Fuente: Vayas, G. (2012).

## 5. Hongos.

En la leche caliente del Programa Bovinos de leche, no se registró presencia de hongos, esto se debe a que de alguna manera existe un control sanitario y asepsia en los materiales que se realiza en el ordeño, además debido a que la leche no permanece mucho tiempo en los recipientes puesto que para que exista este tipo de microorganismos, el producto debe permanecer un tiempo prudencial para su proliferación.

En el cuadro 15, se detalla la presencia de hongos en la leche caliente cruda de la Estación experimental Tunshi - Espoch.

Cuadro 15. PRESENCIA DE HONGOS EN LA LECHE CALIENTE CRUDA DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI - ESPOCH.

Leche Caliente	Antes		Después		T cal	Proba	Sign
	Media	D.e	Media	D.E			
Salmonella	12,35	± 9,30	0	± 0	2,66	0,02	**
Staphylococcus	62,13	± 32,72	15,25	± 19,24	2,47	0,02	*
E. Coli	22,88	± 18,6	5	± 5,77	1,84	0,06	ns
Hongos	0	± 0	0	± 0	0	0	

Fuente: Vayas, G. (2012).

## C. ANÁLISIS DE LA CUAJADA.

### 1. Salmonella.

En la cuajada de leche antes y después de someter al proceso de capacitación en la cadena productiva de producción no se identificó presencia de salmonella esto se debe a que la leche es sometida al proceso de pasteurización, la misma que controla la proliferación de este tipo de microorganismo, presentando una cuajada libre de esta bacteria.

En el cuadro 16, se puede detallar la presencia de salmonella en la cuajada producida en la planta de lácteos de Tunshi - Espoch.



Cuadro 16. PRESENCIA DE SALMONELLA EN LA CUAJADA PRODUCIDA EN LA PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH.

Cuajada	Antes		Después		T cal	Proba	Sign
	Media	D.e	Media	D.E			
Salmonella	0 ± 0	0	0 ± 0	0	0	0	
Staphylococcus	9,25 ± 1,5	1,5	0,25 ± 0,5	0,5	11,38	00001,4	ns
E. Coli	4,75 ± 4,43	4,43	0,25 ± 0,50	0,50	2,02	04,5	*
Hongos	1,75 ± 2,36	2,36	0 ± 0	0	1,48	09,5	ns

Fuente: Vayas, G. (2012).

Ns: No significativo ( $P \geq 0.05$ ).

\*: Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

\*.\*Diferencias altamente significativa ( $P \leq 0.1$ )

D.E: Desviación estándar.

T.cal: T Calculado.

Proba: Probabilidad.

Sign: Significancia.

## 2. Staphylococcus aureus.

La presencia de *Staphylococcus aureus* en la cuajada en la planta de lácteos de la FCP – ESPOCH fue evidente antes del proceso de capacitación presentando una cantidad de  $9.25 \pm 1.5$  UFC/g, no se registró diferencias significativas luego de la capacitación para una buena cadena productiva aunque esta carga microbiana persiste y se determinó una cantidad de  $0.25 \pm 0.50$  UFC/g, a pesar de someter al proceso de pasteurización, esto posiblemente se deba a que este proceso no controla en su totalidad a los *Staphylococcus* por lo que es necesario someter a un proceso más riguroso de control de microorganismos para evitar pérdidas económicas en la industrialización de la leche.

Según Larrañaga, I. (1999), afirma que estas bacterias producen numerosas enzimas en una temperatura de desarrollo entre 7 y 48°C. y un pH entre 6y7. A continuación en el cuadro 17, se detalla la presencia de *staphylococcus aureus* en la cuajada de leche en la planta de lácteos de Tunshi - Espoch.

Cuadro 17. PRESENCIA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN LA CUAJADA DE LECHE EN LA PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH.

Cuajada	Antes		Después		T cal	Proba	Sign
	Media	D.e	Media	D.E			
Salmonella	0 ± 0	0	0 ± 0	0	0	0	
Staphylococcus	9,25 ± 1,5		0,25 ± 0,5		11,38	00001,4	ns
E. Coli	4,75 ± 4,43		0,25 ± 0,50		2,02	04,5	*
Hongos	1,75 ± 2,36		0 ± 0		1,48	09,5	ns

Fuente: Vayas, G. (2012).

Ns: No significativo ( $P \geq 0.05$ ).

\*: Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

\*.\*Diferencias altamente significativa ( $P \leq 0.1$ .)

D.E: Desviación estándar.

T.cal: T Calculado.

Proba: Probabilidad.

Sign: Significancia.

En el gráfico 8, se verifica la presencia de Staphylococcus de la cuajada producida en la planta de lácteos ESPOCH.

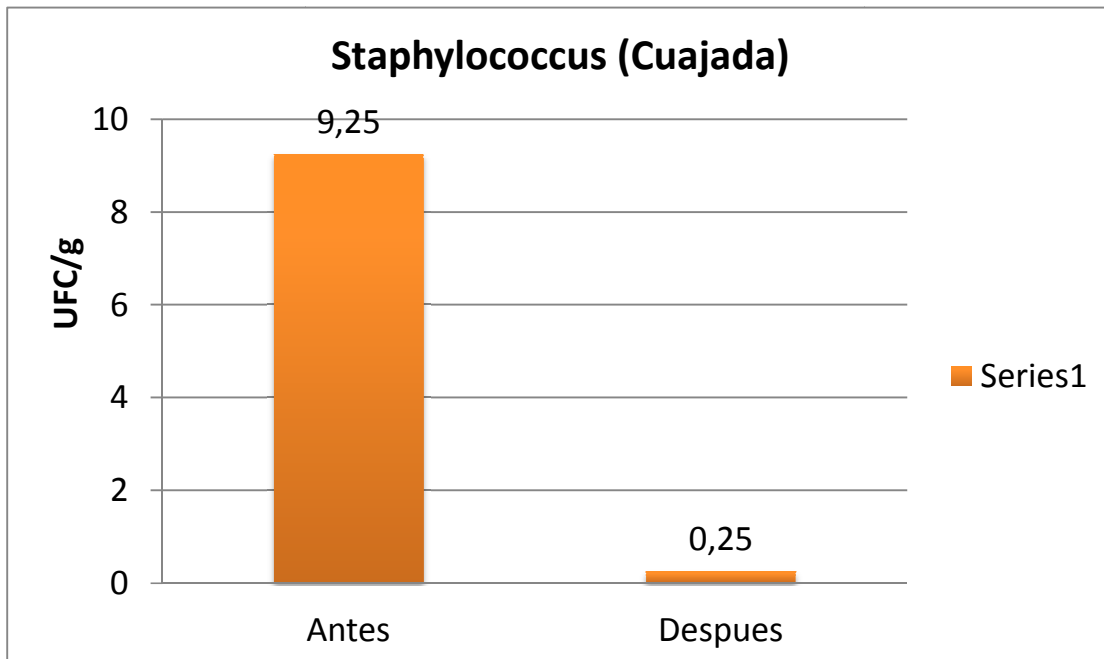


Gráfico 8. Presencia de Staphylococcus de la cuajada producida en la planta de lácteos ESPOCH.

### 3. Escherichia Coli.

La presencia de Escherichia coli en la cuajada antes de aplicar el manual de control de calidad en la cadena productiva fue de  $4.75 \pm 4.43$  UFC/g, la misma que redujo a  $0.25 \pm 0.50$  UFC/g, a pesar de se registró diferencias significativas, con t Calculado de 2.02 y una probabilidad del 0.04% permite manifestar que es necesario tomar medidas más rigurosas para controlar este tipo de bacterias en su totalidad puesto que de alguna manera reduce la calidad de la cuajada y la vida de anaquel, además este tipo de bacterias causan problemas en los consumidores. En el cuadro 18, se detalla la presencia de Escherichia coli en la cuajada de leche en la planta de lácteos de Tunshi Espoch

Cuadro 18. PRESENCIA DE ESCHERICHIA COLI EN LA CUAJADA DE LECHE EN LA PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH.

Cuajada	Antes		Después		T cal	Proba	Sign
	Media	D.e	Media	D.E			
Salmonella	0 ± 0	0	0 ± 0	0	0	0	
Staphylococcus	9,25 ± 1,5	1,5	0,25 ± 0,5	0,5	11,38	1,4E-05	ns
E. Coli	4,75 ± 4,43	4,43	0,25 ± 0,50	0,50	2,02	4,5E-02	*
Hongos	1,75 ± 2,36	2,36	0 ± 0	0	1,48	9,5E-02	ns

Fuente: Vayas, G. (2012)

Ns: No significativo ( $P \geq 0.05$ ).

\*: Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

\*\*.Diferencias altamente significativa ( $P \leq 0.1$ ).

D.E: Desviación estándar.

T.cal: T Calculado.

Proba: Probabilidad.

Sign: Significancia.

En el gráfico 9, se muestra la presencia de Escherichia coli en la cuajada producida en la planta de lácteos ESPOCH.

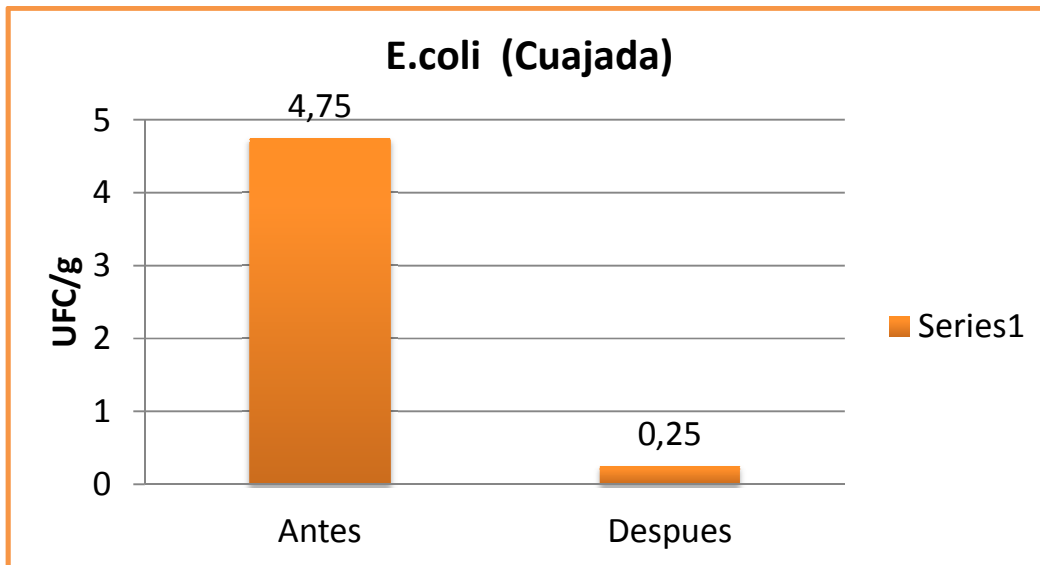


Gráfico 9. Presencia de Escherichia Coli en la cuajada producida en la planta de lácteos ESPOCH.

#### 4. Hongos.

En la cuajada que se elaboró en la planta de lácteos de la FCP – ESPOCH, se registró presencia de hongos en una cantidad de  $1.75 \pm 2.36$  UFC/g, pudiéndose eliminar en su totalidad demostrándose que no presenta diferencias significativas con un T calculado de 1,48 con una probabilidad de 0.09% por lo tanto la capacitación resulto ser efectiva. En el cuadro 19, se describe la presencia de hongos en la cuajada de leche en la planta de lácteos de Tunshi – Espoch.

Cuadro 19. PRESENCIA DE HONGOS EN LA CUAJADA DE LECHE EN LA PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH.

Cuajada	Antes		Después		T cal	Proba	Sign
	Media	D.e	Media	D.E			
Salmonella	0 ± 0	0	0 ± 0	0	0	0	0
Staphylococcus	9,25 ± 1,5	1,5	0,25 ± 0,5	0,5	11,38	1,4E-05	ns
E. Coli	4,75 ± 4,43	4,43	0,25 ± 0,50	0,50	2,02	4,5E-02	*
Hongos	1,75 ± 2,36	2,36	0 ± 0	0	1,48	9,5E-02	ns

Fuente: Vayas, G. (2012).

Ns: No significativo ( $P \geq 0.05$ ).

\*: Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

\*.\*Diferencias altamente significativa ( $P \leq 0.1$ .)

D.E: Desviación estándar.

T.cal: T Calculado.  
 Proba: Probabilidad.  
 Sign: Significancia.

A continuación en el gráfico 10, se verifica la Presencia de Hongos en la cuajada producida en la planta de lácteos ESPOCH.



Gráfico 10. Presencia de hongos en la cuajada producida en la planta de lácteos ESPOCH.

## D. ANÁLISIS DEL QUESO FRESCO.

### 1. Salmonella.

En el queso fresco producido en la planta de lácteos de la ESPOCH antes y después de someter al proceso de capacitación en la cadena productiva no se identificó presencia de salmonella esto se debe a que la leche es sometida al proceso de pasteurización, la misma que controla la proliferación de este tipo de microorganismos, obteniéndose un queso sea libre de esta bacteria que causa daño en la salud del consumidor.

En relación con la Norma INEN 1528 en el queso no debe existir salmonella por lo que concuerda con la ausencia de salmonella en esta investigación. En el cuadro 20,

se detalla la presencia de salmonella en el queso fresco producido en la planta de lácteos de Tunshi - Espoch.

Cuadro 20. PRESENCIA DE SALMONELLA EN EL QUESO FRESCO PRODUCIDO EN LA PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH.

Queso	Antes		Después		T cal	Proba	Sign
	Media	D.e	Media	D.E			
Salmonella	0 ±	0	0 ±	0	0	0	
Staphylococcus	9 ±	2	0,5 ±	0,58	8,167	9,1E-05	Ns
E. Coli	2 ±	2,83	0 ±	0	1,414	1,0E-01	Ns
Hongos	0 ±	0	0 ±	0	0	0	

Fuente: Vayas, G. (2012).

Ns: No significativo ( $P \geq 0.05$ ).

\*: Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

\*.\*Diferencias altamente significativa ( $P \leq 0.1$ )

D.E: Desviación estándar.

T.cal: T Calculado.

Proba: Probabilidad.

Sign: Significancia.

## 2. Staphylococcus aureus.

La presencia de Staphylococcus en el queso producido en la planta de lácteos de la FCP – ESPOCH fue evidente antes del proceso de capacitación puesto que registró una cantidad de  $9 \pm 2$  UFC/g, el mismo que se vio disminuido al no presentar diferencias significativas, que con la capacitación se logró disminuir hasta  $0.50 \pm 0.57$  UFC/g, sin embargo al realizar la pasteurización no controla en su totalidad a este tipo de bacterias por lo que es necesario someter a un proceso más riguroso de control de microorganismos para evitar pérdidas económicas en la industrialización de queso fresco y garantizar un producto de calidad en los consumidores.

De acuerdo a la Norma INEN 1528 la cantidad de Staphylococcus en el queso es de 10UFC/g por lo que en esta investigación está dentro del valor considerado.

Mendoza, M. (2006), señala que no existió presencia de staphylococcus en el queso, aunque en la presente investigación se evidencio este tipo de microorganismos, por lo que es necesario controlar estos microorganismos que reducen la vida de anaquel de los quesos. En el cuadro 21, se demuestra la presencia de staphylococcus aureus en el queso fresco producido en planta de lácteos de Tunshi – Espoch.

Cuadro 21. PRESENCIA DE STHAPYLOCOCCUS AUREUS EN EL QUESO FRESCO PRODUCIDO EN PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH.

Queso	Antes		Después		T cal	Proba	Sign
	Media	D.e	Media	D.E			
Salmonella	0 ±	0	0 ±	0	0	0	
Staphylococcus	9 ±	2	0,5 ±	0,58	8,167	9,1E-05	Ns
E. Coli	2 ±	2,83	0 ±	0	1,414	1,0E-01	Ns
Hongos	0 ±	0	0 ±	0	0	0	

Fuente: Vayas, G. (2012).

Ns: No significativo ( $P \geq 0.05$ ).

\*: Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

\*.\*Diferencias altamente significativa ( $P \leq 0.1$ .)

D.E: Desviación estándar.

T.cal: T Calculado.

Proba: Probabilidad.

Sign: Significancia.

A continuación en el gráfico 11, se representa la presencia de staphylococcus en el queso producido en la planta de lácteos ESPOCH.

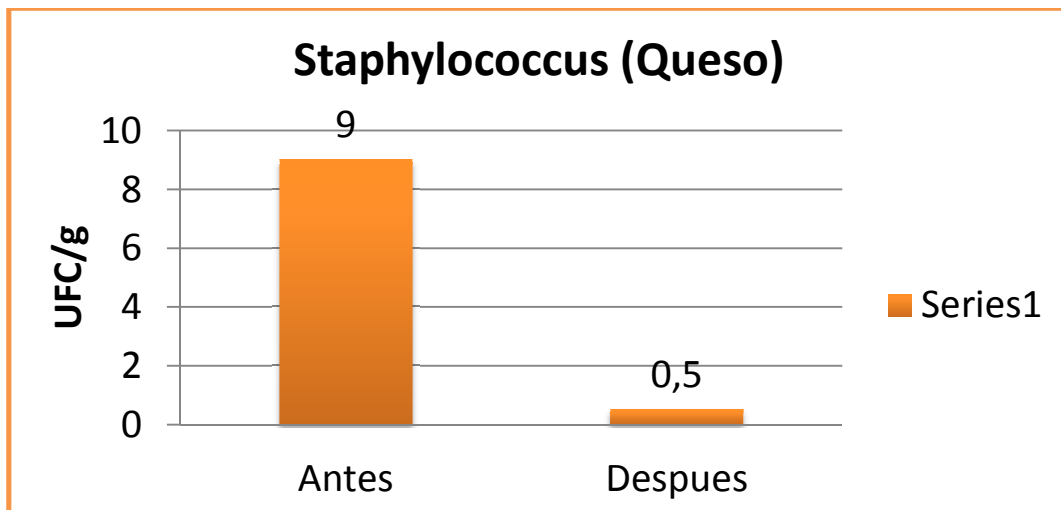


Gráfico 11. Presencia de staphylococcus en el queso producido en la planta de Lácteos ESPOCH.

### 3. Escherichia Coli.

En el queso que se elaboró de la Planta de Lácteos de la FCP – ESPOCH la presencia de *Escherichia coli* fue de  $2 \pm 2.83$  UFC/g, la misma que se pudo reducir en su totalidad por lo tanto no registra diferencias significativas, lo que permite manifestar que se controló este tipo de microorganismos, mediante la capacitación lo que garantiza la calidad de los quesos.

Mendoza, M. (2006), señala que la presencia de *Escherichia coli*, se presentó en quesos en los que no se utiliza fermentos, lo que permite conocer a ciencia cierta que la presencia de medios ácidos no son ideales para el desarrollo de este tipo de bacterias, microorganismo que causa perjuicio en el organismo del ser humano cuando está en cantidades elevadas, como señala el autor, que la presencia de *Escherichia coli* es evidente, pero es necesario utilizar fermentos lácticos que controla a este tipo de bacterias. En cuadro 22, se detalla la presencia de *Escherichia coli* en el queso fresco producido en planta de lácteos de Tunshi – Espoch.

Cuadro 22. PRESENCIA DE ESCHERICHIA COLI EN EL QUESO FRESCO PRODUCIDO EN PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH.

Queso	Antes		Después		T cal	Proba	Sign
	Media	D.e	Media	D.E			
Salmonella	0 ±	0	0 ±	0	0	0	
Staphylococcus	9 ±	2	0,5 ±	0,58	8,167	9,1E-05	Ns
E. Coli	2 ±	2,83	0 ±	0	1,414	1,0E-01	Ns
Hongos	0 ±	0	0 ±	0	0	0	

Fuente: Vayas, G. (2012).

Ns: No significativo ( $P \geq 0.05$ ).

\*: Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

\*.\*Diferencias altamente significativa ( $P \leq 0.1$ .)

D.E: Desviación estándar.

T.cal: T Calculado.

Proba: Probabilidad.

Sign: Significancia.

En el gráfico 12, se representa la presencia de staphylococcus en el queso producido en la planta de lácteos ESPOCH.



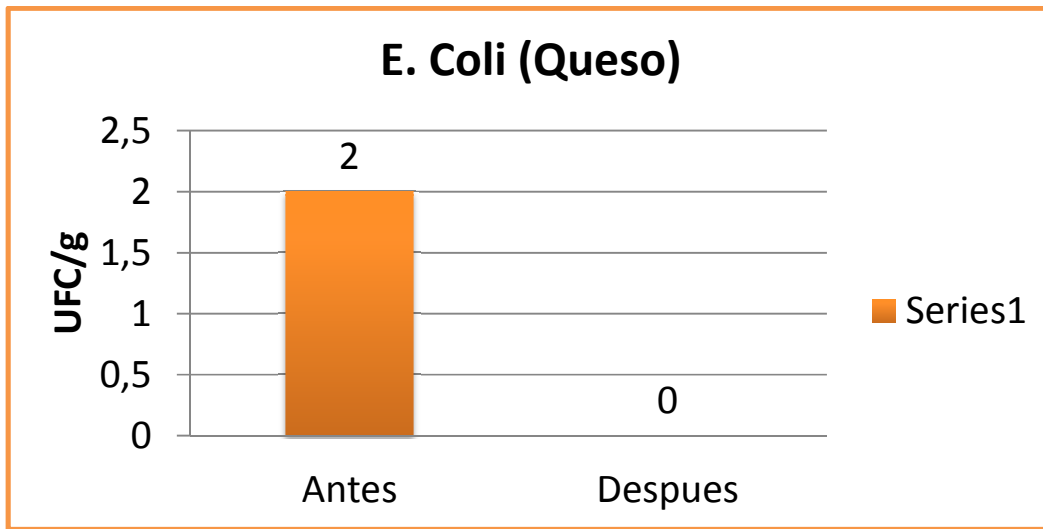


Gráfico 12. Presencia de staphylococcus en el queso producido en la planta de lácteos ESPOCH.

#### 4. Hongos.

En el queso producido en la Planta de Lácteos de la FCP – ESPOCH, no se identificó presencia de hongos, siendo apto para el consumo. En el cuadro 23, se demuestra la presencia de hongos en el queso fresco producido en planta de lácteos de Tunshi - Espoch.

Cuadro 23. PRESENCIA DE HONGOS EN EL QUESO FRESCO PRODUCIDO EN PLANTA DE LÁCTEOS DE TUNSHI ESPOCH.

Queso	Antes		Después		T cal	Proba	Sign
	Media	D.e	Media	D.E			
Salmonella	0 ±	0	0 ±	0	0	0	0
Staphylococcus	9 ±	2	0,5 ±	0,58	8,167	9,1E-05	Ns
E. Coli	2 ±	2,83	0 ±	0	1,414	1,0E-01	Ns
Hongos	0 ±	0	0 ±	0	0	0	0

Fuente: Vayas, G. (2012).

Ns: No significativo ( $P \geq 0.05$ ).

\*: Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

\*.\*Diferencias altamente significativa ( $P \leq 0.1$ .)

D.E: Desviación estándar.

T.cal: T Calculado.

Proba: Probabilidad.

Sign: Significancia.

## **V. CONCLUSIONES.**

- Fue evidente la falta de aplicación de un buen sistema de manejo para la producción de leche por la presencia de un alto número de microorganismos en la leche cruda.
- Por medio de la capacitación se logró motivar al personal involucrado a mejorar las condiciones de higiene aplicando BPO y BPM con la finalidad de reducir la cantidad de m.o en la leche, cuajada y queso fresco - ESPOCH
- Para la realización de los análisis microbiológicos se utilizó el método de Petrifilm y agar salmonella los cuales que nos dieron resultados confiables como se puede demostrar en los cuadros anexados.
- Durante los 15 días de observación, los quesos que fueron sometidos a vida de anaquel mostraron características adecuadas e inocuas para el consumo humano.

## **VI. RECOMENDACIONES.**

- Al personal involucrado en la producción de la leche y sus derivados se les debe estimular para mantener las normas de asepsia del Proceso de obtención de leche desde el ordeño, para garantizar la inocuidad de los derivados lácteos.
- Aplicar correctamente el manual de calidad en los procesos de industrialización del queso considerando la calidad de la materia prima, BPO, BPM, almacenamiento y conservación del queso Fresco y con ello permite controlar la proliferación de microorganismos, incrementando la vida útil del producto.
- Continuar desarrollando investigaciones sobre metabolitos microbianos, que impulsen la calidad total de los productos alimenticios que se produce en la planta de Lácteos Tunshi de la FCP – ESPOCH que es la carta de presentación de la institución ante la sociedad y la empresa pública y privada.

**VII. LITERATURA CITADA.**

1. CARRIÓN. A. 2008. Influencia de los diferentes grados de mastitis sobre el porcentaje de materia grasa, densidad, acidez, pH y reductasa de leche receptada en lácteos San Antonio. Tesis de Grado. Escuela de Ingeniería Zootécnica - Facultad de Ciencia Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
2. DUBACH, J. 1988. El ABC de las queseras rurales de los Andes. 2a ed. Quito – Ecuador. Edit. Quito p.6 (6,7,8).
3. FLORES, I. 1998 Folleto de Microbiología. Edit. Escuela de Ingeniería Zootécnica. Riobamba – Ecuador. Edit. Copiadora de la Espoch.
4. GAVILÁNEZ, E. 2000. La leche y productos lácteos. 1a ed. Riobamba – Ecuador.
5. LARRAÑA, I. 1999 Control e higiene de los alimentos. 1a ed. España. Edit. McGraw Hill. P.100.
6. MENDOZA, M. 2006. Evaluación de fermentos lácticos comerciales en la planta de lácteos Tunshi. Tesis de Grado. Escuela de Ingeniería Zootécnica - Facultad de Ciencia Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. pp. 61.62.

7. MOSCOSO, J. 2011. Evaluación de la tintura de ajo a diferentes concentraciones como sellador de ubres post ordeño para mejorar la calidad de la leche en cuatro fincas de la parroquia Ingapirca provincia del Cañar. Tesis de Grado. Escuela de Ingeniería Zootécnica - Facultad de Ciencia Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
  
8. REVILLA, A. 1996. Tecnología de la leche. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. 3a ed. Tegucigalpa – Honduras. Edit. LEVANTEX S.A p. 13.
  
9. TORTORA, J. 1993. Introducción a la microbiología. 9a ed. Zaragoza – España.
  
10. <http://html.rincondelvago.com/proceso-de-elaboracion-del-queso.html> (1998).
  
11. <http://www.inia.gob.pe/boletin/boletin0023/contaminacion%20de%20la%20leche.htm> (1999).
  
12. <http://es.wikipedia.org/wiki/Salmonella> (2000).
  
13. [http://multimedia.3m.com/mws/mediawebserver?mwsId=66666UuZjcFSLXTtMxMy5xfyEVuQEcuZgVs6EVs6E666666&fn=PEC%20Interp%20Guide\\_spa.pdf](http://multimedia.3m.com/mws/mediawebserver?mwsId=66666UuZjcFSLXTtMxMy5xfyEVuQEcuZgVs6EVs6E666666&fn=PEC%20Interp%20Guide_spa.pdf) Almacenamiento. (2002).

14. [https://docs.google.com/viewer?a=Escherichia-coli-O157-PQ0YLh1aiRAJAHf\\_G-4r5BWXHwx&sig=AHIEtbTNV71QM0zjV-8oGd-CAZujoRXYMg](https://docs.google.com/viewer?a=Escherichia-coli-O157-PQ0YLh1aiRAJAHf_G-4r5BWXHwx&sig=AHIEtbTNV71QM0zjV-8oGd-CAZujoRXYMg). (2003).
15. <http://vvalenciaudc.tripod.com/def.htm>. (2008).
16. [http://www.mailxmail.com/curso-leche-produccion-lactea/leche-definicion-composición](http://www.mailxmail.com/curso-leche-produccion-lactea/leche-definicion-composicion). (2009).
17. <http://www.misionrg.com.ar/lacconta.htm#BACTERIOLOGIA%20DE%20LAS%20LECHES%20DE%20QUESERIA>. (2009).
18. <http://es.wikipedia.org/wiki/Leche>. (2012).
19. <http://www.food-info.net/es/bact/staur.htm>. (2012).

**ANEXOS.**

## Anexo 1. Salmonella en la leche fría de la planta de Lácteos de la ESPOCH

Salmonella UFC/g		Repeticiones				Media	Desv. Estan
Etapas	I	II	III	IV			
<b>Antes</b>		40	15	5	40	25	17,80
<b>Después</b>		0	0	0	0	0	0

	<i>Antes</i>	<i>Después</i>
Media	25	0
Varianza	316,666667	0
Observaciones	4	4
Varianza agrupada	158,333333	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	2,80975743	
P(T<=t) una cola	0,015383	
Valor crítico de t (una cola)	1,94318027	
P(T<=t) dos colas	0,03076601	
Valor crítico de t (dos colas)	2,44691185	

## Anexo 2. Staphylococcus en la leche fría de la planta de Lácteos de la ESPOCH.

Sthaphylococcus UFC/g		Repeticiones				Media	Desv. Esta
Etapas	I	II	III	IV			
<b>Antes</b>	150	85	3	180	104,50	78,43	
<b>Después</b>	20	30	0,5	0	12,63	14,86	

	<i>Antes</i>	<i>Después</i>
Media	104,5	12,625
Varianza	6151	220,895833
Observaciones	4	4
Varianza agrupada	3185,94792	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	2,30193478	
P(T<=t) una cola	0,03046932	



Valor crítico de t (una cola)	1,94318027
P(T<=t) dos colas	0,06093864
Valor crítico de t (dos colas)	2,44691185

### Anexo 3. Escherichia Coli en la leche fría de la planta de Lácteos de la ESPOCH.

E. Coli UFC/g		Repeticiones				Media	Desv. Esta
Etapas	I	II	III	IV			
Antes		115	60	0	66	60,25	47,12
Después		50	20	0	0	17,5	23,63
			<i>Antes</i>	<i>Después</i>			
			60,25	17,5			
			2220,25	558,333333			
			4	4			
			1389,29167				
			0				
			6				
			1,62201326				
			0,07796359				
			1,94318027				
			0,15592717				
			2,44691185				

### Anexo 4. Salmonelosis en la leche Caliente de la planta de Lácteos de la ESPOCH

Salmonella UFC/g		Repeticiones				Media	Desv. Esta
Etapas	I	II	III	IV			
Antes		24	2	9	15	12,35	9,30
Después		0	0	0	0	0	0
			<i>Antes</i>	<i>Después</i>			
			12,35	0			
			86,4566667	0			
			4	4			
			43,2283333				

Diferencia hipotética de las medias	0
Grados de libertad	6
Estadístico t	2,65642592
P(T<=t) una cola	0,01885177
Valor crítico de t (una cola)	1,94318027
P(T<=t) dos colas	0,03770355
Valor crítico de t (dos colas)	2,44691185

### Anexo 5. Staphylococcus en la leche Caliente de la planta de Lácteos de la ESPOCH

#### Staphylococcus UFC/g

Etapas	Repeticiones				Media	Desv. Esta
	I	II	III	IV		
<b>Antes</b>	95	51	22	81	62,125	32,72
<b>Después</b>	40	21	0	0	15,25	19,24

	<i>Antes</i>	<i>Después</i>
Media	62,125	15,25
Varianza	1070,39583	370,25
Observaciones	4	4
Varianza agrupada	720,322917	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	2,4699756	
P(T<=t) una cola	0,02422966	
Valor crítico de t (una cola)	1,94318027	
P(T<=t) dos colas	0,04845931	
Valor crítico de t (dos colas)	2,44691185	

### Anexo 6. Escherichia Coli en la leche Caliente de la planta de Lácteos de la ESPOCH

#### E. Coli UFC/g

Etapas	Repeticiones				Media	Desv. Esta
	I	II	III	IV		
<b>Antes</b>	50	11	11	20	22,88	18,60
<b>Después</b>	10	10	0	0	5	5,77

**Anexo 7. Staphylococcus en la cuajada producida en la planta de Lácteos de la ESPOCH**

<b>Staphylococcus</b>							
<b>Etapas</b>	<b>Repeticiones</b>				<b>Media</b>	<b>desv. Esta</b>	
	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>			
<b>Antes</b>	10		7	10	10	9,25	1,50
<b>Después</b>	0		1	0	0	0,25	0,50

	<i>Antes</i>	<i>Después</i>
Media	9,25	0,25
Varianza	2,25	0,25
Observaciones	4	4
Varianza agrupada	1,25	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	11,3841996	
P(T<=t) una cola	1,3767E-05	
Valor crítico de t (una cola)	1,94318027	
P(T<=t) dos colas	2,7534E-05	
Valor crítico de t (dos colas)	2,44691185	

**Anexo 8. Escherichia Coli en la cuajada producido en la planta de Lácteos de la ESPOCH**

<b>E.coli UFC/g</b>							
<b>Etapas</b>	<b>Repeticiones</b>				<b>Media</b>	<b>Des. Esta</b>	
	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>			
<b>Antes</b>	2		0	9	8	4,75	4,43
<b>Después</b>	1		0	0	0	0,25	0,5

	<i>Antes</i>	<i>Después</i>
Media	4,75	0,25
Varianza	19,58333333	0,25
Observaciones	4	4
Varianza agrupada	9,91666667	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	2,02089921	
P(T<=t) una cola	0,04489425	

Valor crítico de t (una cola)	1,94318027
P(T<=t) dos colas	0,08978851
Valor crítico de t (dos colas)	2,44691185

### Anexo 9. Hongos en la cuajada producida en la planta de Lácteos de la ESPOCH

Hongos		Repeticiones				Media	Des. Esta
Etapas	I	II	III	IV			
Antes		5	2	0	0	1,75	2,36
Después		0	0	0	0	0	0
			<i>Antes</i>	<i>Después</i>			
Media			1,75	0			
Varianza			5,58333333	0			
Observaciones			4	4			
Varianza agrupada			2,79166667				
Diferencia hipotética de las medias			0				
Grados de libertad			6				
Estadístico t			1,48122579				
P(T<=t) una cola			0,09452591				
Valor crítico de t (una cola)			1,94318027				
P(T<=t) dos colas			0,18905182				
Valor crítico de t (dos colas)			2,44691185				

### Anexo 10. Staphylococcus en el queso producido en la planta de Lácteos de la ESPOCH.

Staphylococcus UFC/g		Repeticiones				Media	Desv. Esta
Etapas	I	II	III	IV			
Antes		10	6	10	10	9	2
Después		1	1	0	0	0,5	0,58
			<i>Antes</i>	<i>Después</i>			
Media			9	0,5			
Varianza			4	0,33333333			
Observaciones			4	4			
Varianza agrupada			2,16666667				
Diferencia hipotética de las			0				

medias	
Grados de libertad	6
Estadístico t	8,16653584
P(T<=t) una cola	9,0726E-05
Valor crítico de t (una cola)	1,94318027
P(T<=t) dos colas	0,00018145
Valor crítico de t (dos colas)	2,44691185

---

### Anexo 11. Escherichia Coli en el queso producido en la planta de Lácteos de la ESPOCH

E. Coli UFC/g

Etapas	Repeticiones				Media	Desv. Estand.
	I	II	III	IV		
Antes		2	0	0	6	2,83
Después		0	0	0	0	0

	Antes	Después
Media	2	0
Varianza	8	0
Observaciones	4	4
Varianza agrupada	4	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	1,41421356	
P(T<=t) una cola	0,10351563	
Valor crítico de t (una cola)	1,94318027	
P(T<=t) dos colas	0,20703125	
Valor crítico de t (dos colas)	2,44691185	

## Anexo 12. Cuadro resumen del análisis Microbiológico

Leche Fría	Antes		Después		T cal	Proba	Sign
	Media	D.E	Media	D.E			
Salmonella	25,00 ±	17,80	0 ±	0,00	2,81	0,02	*
Staphylococcus	104,50 ±	78,43	12,63 ±	14,86	2,30	0,03	*
E. Coli	60,25 ±	47,12	17,50 ±	23,63	1,62	0,08	ns
Hongos	0 ±	0	0 ±	0	0	0	

Leche Caliente	Antes		Después		T cal	Proba	Sign
	Media	D.e	Media	D.E			
Salmonella	12,35 ±	9,30	0 ±	0	2,66	0,02	**
Staphylococcus	62,13 ±	32,72	15,25 ±	19,24	2,47	0,02	*
E. Coli	22,88 ±	18,6	5 ±	5,77	1,84	0,06	ns
Hongos	0 ±	0	0 ±	0	0	0	

Cuajada	Antes		Después		T cal	Proba	Sign
	Media	D.e	Media	D.E			
Salmonella	0 ±	0	0 ±	0	0	0	
Staphylococcus	9,25 ±	1,5	0,25 ±	0,5	11,38	1,4E-05	ns
E. Coli	4,75 ±	4,43	0,25 ±	0,50	2,02	4,5E-02	*
Hongos	1,75 ±	2,36	0 ±	0	1,48	9,5E-02	ns

Queso	Antes		Después		T cal	Proba	Sign
	Media	D.e	Media	D.E			
Salmonella	0 ±	0	0 ±	0	0	0	
Staphylococcus	9 ±	2	0,5 ±	0,58	8,167	9,1E-05	ns
E. Coli	2 ±	2,83	0 ±	0	1,414	1,0E-01	ns
Hongos	0 ±	0	0 ±	0	0	0	