

Análisis microbiológico de quesos frescos comercializados en la ciudad de Babahoyo

Analysis microbiological of fresh cheeses commercialized in the Babahoyo city

<https://doi.org/10.5281/zenodo.4432656>

AUTORES: Fernando Espinoza Espinoza^{1*}

Adolfo Filian Murrieta²

Mario Filian Córdova³

Gerardo Cuenca Nevárez⁴

DIRECCIÓN PARA CORRESPONDENCIA: * fespinoza@utb.edu.ec

Fecha de recepción: 25 / 09 / 2020

Fecha de aceptación: 28 / 12 / 2020

RESUMEN

En la ciudad de Babahoyo el expendio de queso fresco, se constituye en una actividad común, sin embargo, existe un desconocimiento de las buenas prácticas de manipulación e higiene que se debe mantener para este tipo de procesos. El objetivo de la presente investigación fue realizar un análisis microbiológico de los quesos frescos que se comercializan en la ciudad de Babahoyo y así determinar si este alimento cumple con los estándares de calidad para su consumo tal como lo señala la normativa técnica Ecuatoriana NTE INEN 1528-2012: Con este fin se tomaron 35 muestras de 250g cada una, a las que a su vez se les realizó un examen microbiológico de control de calidad en lo que respecta a la determinación de *Staphylococcus aureus*, Enterobacterias y *Salmonella sp.*, se empleó un diseño experimental completamente al azar (DCA) con 3 repeticiones. Después de haber

¹Ingeniero Agrónomo, Universidad Técnica de Babahoyo, fespinoza@utb.edu.ec

²Ingeniero Agroindustrial, Universidad Católica Santiago de Guayaquil, adolfof70@gmail.com

³Ingeniero Agrónomo, Universidad Técnica de Babahoyo, mariofilian@hotmail.com

⁴Master en Gestión y Auditorías Ambientales, Universidad Técnica de Manabí Especializado en Gestión Integral del Agua y Contaminación Marina, gerardo.cuenca@utm.edu.ec

realizado el análisis microbiológico respectivo, se reportó presencia de carga bacteriana en el siguiente orden: *Staphylococcus aureus*, presentó una población promedio de $82,88 \pm 30,58$ UFC g^{-1} , las Enterobacterias, se reportaron con un promedio de $754,57 \pm 292,84$ UFC g^{-1} y *Salmonella sp.*, presento un valor promedio de $0,70 \pm 0,98$ $25g^{-1}$ de producto, evidenciando que existio diferencia significativa entre los grupos de bacterias patógenas analizadas ($p < 0,05$). Por lo que se pudo concluir que el expendio inadecuado del queso fresco en los 3 mercados municipales evaluados, representan una amenaza para la seguridad alimentaria y la salud pública de los consumidores de esta ciudad.

Palabras clave: *calidad microbiológica, queso fresco, límites permisibles, inocuidad, comercialización.*

ABSTRACT

In the city of Babahoyo, the sale of fresh cheese is a common activity, however, there is a lack of knowledge of good handling and hygiene practices that must be maintained for this type of process. The objective of this research was to carry out a microbiological analysis of the fresh cheeses that are commercialized in the city of Babahoyo and thus determine if this food complies with the quality standards for its consumption as indicated by the Ecuadorian technical regulation NTE INEN 1528-2012: For this purpose, 35 samples of 250g each were taken, which in turn underwent a microbiological quality control examination regarding the determination of *Staphylococcus aureus*, Enterobacterias and *Salmonella sp.*, A Completely randomized experimental design (DCA) with 3 replications. After having carried out the respective microbiological analysis, the presence of bacterial load was reported in the following order: *Staphylococcus aureus*, presented an average population of 82.88 ± 30.58 CFU g^{-1} , Enterobacteria, were reported with an average of 754.57 ± 292.84 CFU g^{-1} and *Salmonella sp.*, presented an average value of 0.70 ± 0.98 $25g^{-1}$ of product, showing that there was a significant difference between the groups of pathogenic bacteria analyzed ($p < 0.05$). Therefore, it could be concluded that the inadequate sale of fresh cheese in the 3 municipal markets evaluated represents a threat to food safety and public health of consumers in this city.

Keywords: *microbiological quality, fresh cheese, permissible limits, innocuousness, commercialization*

INTRODUCCIÓN

El queso forma parte de los alimentos esenciales y está presente en todos los hogares a nivel mundial, se caracteriza por su textura y características sensoriales entre maduros, semimaduros y frescos, se puede degustar más de 2000 variedades (FAO, 2008). El queso fresco es consumido masivamente por la población ecuatoriana, considerándose como un producto de la canasta básica familiar, además es un alimento completo por sus propiedades definidas, su composición es alta en proteínas, grasas y vitaminas.

Con los avances tecnológicos se han desarrollado procesos controlados con el cual podemos obtener microestructura, propiedades físico químico, texturales y sensoriales de gran calidad, sin embargo, una mala práctica de manipulación y un incorrecto almacenamiento conlleva a una contaminación causada por microorganismos como: *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Coliformes totales*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* que se convierten en fuentes de ETAs (Otero, 1990).

Según la OMS (2015) en su nota descriptiva N°399; sobre inocuidad de los alimentos, determina que los alimentos insalubres contaminados por microorganismo o sustancias químicas perjudiciales causan más de 200 enfermedades, que parten desde la diarrea hasta llegar a cáncer. Esto se complementa con lo señalado por Hernández y Durán en (2013). Donde se estima que cada año se enferman en el mundo unos 600 millones de personas esto indicaría casi 1 de cada 10 habitantes se enferma por ingesta de alimentos contaminados y que 420 000 mueren por esta misma causa. El 40% de los niños menores de 5 años soportan la carga de enfermedades por transmisión alimentaria, que provocan cada año 125 000 muertes en este grupo de edad.

Por su parte Pedroza en (2017), destaca que la detección de bacterias patógenas durante el proceso de elaboración de queso artesanal producido a partir de leche sin pasteurizar podría causar intoxicaciones alimentarias y por lo tanto producir enfermedades transmitidas por los alimentos y causadas ya sea por microorganismos patógenos o por las toxinas que estos producen Merchán *et al* (2019). Citando a Vásquez *et al.*, (2018); informaron que la presencia de microorganismos patógenos, depende de la calidad y del tratamiento térmico de la leche, aplicación de las buenas prácticas de manipulación, la calidad de los cultivos, el manejo del cuajo, el mantenimiento de la temperatura en las diversas fases de almacenamiento, transporte y distribución, tal como lo corrobora .

Según la NTE INEN 1528-2012, dispone una norma general para quesos fresco no madurados donde se debe cumplir mínimos y máximos que garanticen la inocuidad del alimento, haciendo referencia a la presencia de *Enterobacteriaceas* determinadas en UFC g⁻¹ (2×10^2 - 10^3), *Staphylococcus aureus* UFC g⁻¹ (10 - 10^2), *Salmonella sp.*, (ausencia en cada 25 g de producto) por lo cual se deben realizar controles bacteriológicos rigurosos y periódicos de estos productos.

Los consumidores desconocen la carga bacteriana que contiene los quesos frescos y que pueden causar perjuicios en la salud, por lo tanto, la presente investigación tiene como objetivo realizar un análisis microbiológico de los quesos frescos que se comercializan en la ciudad de Babahoyo y así determinar si este alimento cumple con los estándares de calidad para su consumo.

METODOLOGÍA

Se tomaron 35 muestras de queso fresco artesanal, cada muestra tenía un peso de 250g, las mismas que se obtuvieron en los 3 mercados municipales de la ciudad de Babahoyo, Elias Arias, Barrio Lindo y 4 de mayo. El muestreo se realizó durante siete días, por día se recolecto cinco muestras. Las muestras se mantuvieron en buen estado de refrigeración a 4-5°C hasta su análisis en el laboratorio de microbiología de la Universidad Técnica de Manabí.

Para el enriquecimiento de cada muestra, se tomaron 30g de queso fresco, se introdujeron en fundas estériles con cierre de presión (Ziplock®) a las que se agregó agua de peptona a razón de 270ml por cada 30g de muestra (dilución 10^{-1}). La muestra fue homogenizada manualmente, posteriormente, en tubos de ensayo estériles, se agregaron 9 ml de agua destilada estéril con el fin de realizar diluciones decimales consecutivas hasta una concentración 10^{-5} .

Para el análisis de Enterobacterias, se utilizó la técnica de recuento en placa por siembra en profundidad en agar Mc Conkey, usando una pipeta estéril, de cada una de las diluciones decimales se dispensó, por duplicado, alícuotas de 1cm^3 en cajas Petri adecuadamente rotuladas. Iniciar por la dilución de menor concentración, de acuerdo a la norma técnica vigente NTE INEN 1529-13:98.

En lo que respecta al cultivo de *Staphylococcus aureus* se empleó la técnica recuento de placas en siembra por extensión en superficie, para lo cual a partir de la dilución 10^{-1} , se dispensó por duplicado volúmenes de $0,1 \text{ cm}^3$ sobre la superficie seca de placas de agar Staphylococcus-110. Con la varilla en L, se diseminó el inóculo, uniformemente, sobre la superficie del agar, hasta que sea absorbido por el medio. Para este caso, se utilizó una varilla por dilución. Luego Invertir las placas e incubar entre 35 y 37°C durante 32 ± 2 h, acorde a lo estipulado por la normativa técnica NTE INEN 1 529-14:98.

Para el cultivo de Salmonella se tomó una unidad de muestra de 100g, acorde a la NTE INEN 1529-2. Para el cultivo de este grupo microbiano se pesó asépticamente, 25 g de la muestra en un frasco de boca ancha con tapa de rosca (500 ml), se adicionó 225 ml de agua de peptona, luego se homogenizó a alta velocidad durante 2 minutos. Se cerró el frasco y dejar a temperatura ambiente por 60 minutos. Mezclar bien y ajustar el pH. Con la tapa aflojada $1/4$ de vuelta, incubar a 37°C durante no menos 16 horas y no más de 20 horas. Luego, pipetear 10 ml en 100 ml de caldo tetrionato verde brillante y otros 10 ml en 100 ml de selenito cistina. Se incubó el caldo selenito cistina a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas y el caldo tetrionato entre 42 y 43°C durante 48 horas. Cuando el periodo de incubación de los medios tetrionato y selenito alcanzaron entre las 18 y 24 h, ajustaron las tapas y de cada uno de ellos, con asa de cultivo sembrar en estría sobre la superficie seca de placas de agar Salmonella-Shigella (SS) de manera a obtener colonias aisladas (primer subcultivo). Invertir las placas e incubarlas a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 h; de acuerdo a la norma técnica NTE INEN 1529-15.98

Los resultados de los análisis microbiológicos realizados se transformaron a \log_{10} UFC (Unidades Formadoras de Colonias) g^{-1} o ml^{-1} . Cabe señalar, que se empleó un diseño experimental completamente al azar (DCA) mediante el siguiente modelo general lineal.

$$(1) \quad y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = variable respuesta

μ = media general

τ_i = número de tratamientos

E_{ij} = es el efecto verdadero del i -ésimo tratamiento, sujeto a la j -ésima unidad experimental (error experimental).

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de significancia ($P < 0.05$) utilizando el modelo general lineal del software estadístico "Statsoft statistica v7". En caso de haber diferencias significativas ($p < 0.05$) se aplicó la prueba de rango múltiple Duncan (Gutiérrez y De la Vara, 2013).

RESULTADOS

La temperatura ambiental en los diversos locales de expendio en la ciudad de Babahoyo estuvo entre 26,2 y 28°C, mientras que la humedad ambiental reportó valores entre 75 y 97%. En lo que respecta al pH de las muestras de queso fresco estas se mantuvieron en el rango comprendido entre 4,7 a 6,6; por lo que los quesos se mantuvieron en condiciones aceptables. Cabe mencionar que los quesos se encontraban dispuestos en marquetas sobre bandejas de aluminio al aire libre y también en refrigeración (4 a 5°C). Así mismo, para la comercialización, los quesos eran pesados sobre bandejas plásticas que estaban encima de la balanza y luego eran envueltos en fundas plásticas. A continuación, en la tabla 1, se presentan los valores mínimo y máximo obtenidos del recuento de especies bacterianas en 35 establecimientos de expendio de queso fresco.

Staphylococcus aureus, presentó una población promedio de $82,88 \pm 30,58$ UFC g^{-1} , lo que indica que de acuerdo a la norma NTE-INEN 1528-2012, las muestras de queso fresco en general se encuentran dentro de los rangos permisibles para este grupo bacteriano, aún cuando se encuentra con alta carga bacteriana para este grupo. En lo que respecta al grupo bacteriano representado por las Enterobacterias, se reportaron valores en un rango comprendido entre 200 y 1019 UFC g^{-1} con un promedio de $754,57 \pm 292,84$ UFC g^{-1} ; la misma norma técnica destaca que valores por encima de 1000 UFC g^{-1} están fuera del rango permisible como límite de carga bacteriana para la comercialización de este producto, por lo que se destaca que este producto no es apto para la seguridad alimentaria de la población humana.

Por su parte el grupo bacteriano conformado por Salmonella, presentó un valor promedio de $0,70 \pm 0,98$ por cada 25 g de producto, el mismo que contrastado con la norma técnica

NTE INEN 1528-2012; determina que el mismo no cumple con las especificaciones sanitarias correspondientes para ser expendido en la colectividad.

Tabla 1. Análisis descriptivo de la carga microbiana reportada para queso fresco expendido en la ciudad de Babahoyo.

Grupos bacterianos	n	Promedio	mínimo	Máximo	Desv. Estándar
<i>Staphylococcus aureus</i>	35	82,88	10	118	30,58
Enterobacterias	35	754,57	200	1019	292,84
Salmonella	35	0,70	0	3	0,98

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 2, se puede determinar que el comportamiento del grupo bacteriano correspondiente a *Staphylococcus aureus*, es significativo (0,0001), con valor F (98,99), en el nivel de *Enterobacterias* también hay significancia (0,0001) con valor de F (18,81); en el caso de *Salmonella sp.*, el modelo es significativo (1,29) con valor de ajuste (0,295), se puede determinar que existió significancia entre las variables del grupo con un nivel de confianza del 95%.

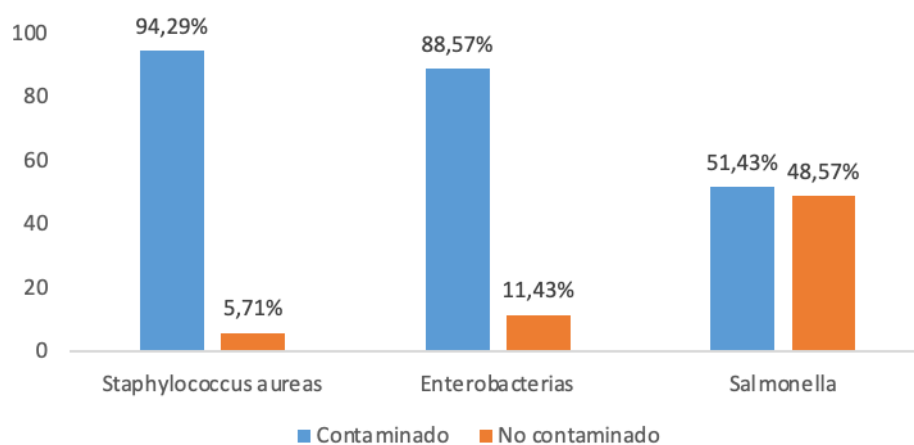
Tabla 2. Análisis de varianza (ANOVA al 95% de nivel de confianza) de los grupos microbianos analizados

<i>Staphylococcus aureus</i>					
Fuente	gL	SC	CM	F	Pr > F
Sitio de expendio	34	96033,39	2824,51	162,33	< 0,0001
Error	70	1218	17,40		
Total	104	97251,39			
<i>Enterobacterias</i>					
Fuente	gL	SC	CM	F	Pr > F
Sitio de expendio	34	8496725,05	249903,68	41,47	< 0,0001
Error	70	421874,67	6026,78		
Total	104	8918599,71			
<i>Salmonella sp.</i>					

Fuente	gL	SC	CM	F	Pr > F
Sitio de expendio	34	83,18	2,45	10,28	< 0,0001
Error	70	16,67	0,24		
Total	104	99,85			

Fuente: Elaboración propia

Figura 1. Análisis del porcentaje de la presencia/ausencia de microorganismos contaminantes encontrados en el queso fresco que se expende en los 3 mercados municipales muestreados en el presente estudio.



Fuente: Elaboración propia

DISCUSIÓN

En la comparación de medias, para el grupo bacteriano *Staphylococcus aureus* existe diferencias altamente significativas, estos valores son superiores a los reportados por Rivera y Mujica en (2013); en diversos análisis microbiológicos realizados a quesos frescos. Cabe destacar, que los valores obtenidos en la presente investigación cumplen con lo establecido por la norma NTE-INEN 1528-2012, la misma que indica que los valores mínimo y máximo para este grupo bacteriano, se ubican en el orden de 10 a 10² UFC g⁻¹.

Orozco en (2018); determina que uno de los parámetros para determinar la inocuidad del queso fresco, así como su vida útil es la presencia del grupo bacteriano conformado por las Enterobacterias, el mismo que se ubicó al margen de lo permitido por la normativa técnica ecuatoriana NTE-INEN 1528-2012; que ubica a este grupo en un rango de 200 a 1000 UFC g⁻¹. Esto se registra por la inadecuada preservación del producto antes de ser vendido.

En lo que respecta, al grupo bacteriano Salmonella, en algunos sitios de expendio de la ciudad de Babahoyo, se determinó la presencia de este microorganismo en el queso fresco, esto se contrapone a estudios previos realizados por Idarriaga *et al.*, en (2018) en cujada de queso en el Departamento de Quindío y lo dispuesto por la normativa técnica ecuatoriana NTE-INEN 1528-2012; que determina la ausencia total de este microorganismo en un producto de consumo masivo como el queso fresco. Lo anterior se puede deber a que en los sitios de expendio de queso fresco también se expenden huevos que es uno de los vehículos transmisores de este microorganismo, de acuerdo con Arboleda en (2017) y corroborado por Castellanos *et al.*, en (2019). Por lo que se infiere, que en los sitios de expendio existen problemas de contaminación cruzada, que afectan a la calidad microbiológica del queso fresco que allí se comercializa.

CONCLUSIONES

En la población de 35 muestras de quesos frescos, los análisis registraron incidencias por parte de *Staphylococcus aureus*, pero dentro de los límites permisibles por la normativa ecuatoriana, por lo que al encontrarse dentro del rango determinado se pueden consumir, pero de forma inmediata y no almacenarlo por mucho tiempo. No obstante, si se encontró un pequeño número de muestras que estaban contaminadas por Enterobacterias y Salmonella, por lo que representan una amenaza para la seguridad alimentaria y la salud pública de los consumidores de esta ciudad, ya que estos microorganismos provocan severos casos de trastornos digestivos, los mismos que si no son tratados adecuadamente, pueden alojarse de por vida en la biota gastrointestinal de los organismos de sangre caliente como el hombre.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arboleda, T. (2007). Contra los patógenos en los quesos: Una cuestión de buenas prácticas. *Pesquisa Javeriana*. 1(3). https://www.javeriana.edu.co/pesquisa/wp-content/uploads/pesquisa03_02.pdf
- Merchán, N.; Pineda, L.; Cárdenas, A.; González, N.; Otálora, M.; Sánchez, Y. (2019). Microorganismos comúnmente reportados como causantes de enfermedades transmitidas por el queso fresco en las Américas, 2007-2016. *Revista Cubana De*

- Higiene Y Epidemiología*, 56(1).
<http://www.revepidemiologia.sld.cu/index.php/hie/article/view/171/260>
- FAO-OMS. (2008). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación-Organización Mundial de la Salud. Cultivos lácteos y productos lácteos fermentados. Manual correspondiente al módulo III. Productos fermentados y queso. Equipo de fomento y capacitación en la lechería de FAO para América Latina
- Gutiérrez, H.; De la Vara, R. (2013). Control estadístico de la calidad y Seis Sigma: Humberto Gutiérrez Pulido y Román de la Vara Salazar (3ra edición). México D.F.: McGraw-Hill.
- Hernández, N.; Durán, T. (2013). Calidad sanitaria de los puntos iniciales de proceso de manufactura de queso. *Horizonte Sanitario*, 12, 2, 58-62.
<http://www.scielo.org.co/pdf/rsap/v19n3/0124-0064-rsap-19-03-00311.pdf>
- Idarriaga, M.; Delgado, V.; León, A.; Osorio, J. (2018). Análisis Microbiológico de Queso cuajada en Municipios del Departamento del Quindío. *Rev Ión*;31(1):49-54.
doi: 10.18273/revion.v31n1-2018008. DOI: <http://dx.doi.org/10.18273/revion.v31n1-2018008>. ISSN web: 2145-8480
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. INEN (2012). Norma general para quesos frescos. Norma INEN 1528:2012. Quito - Ecuador. Recuperado el 17 de julio de 2020. Disponible: <http://normaspdf.inen.gob.ec/pdf/nte/1528.pdf>
- Merchán, N.; Zurymar, T.; Nino, L.; Urbano, E. (2019). Determinación de la inocuidad microbiológica de quesos artesanales según las normas técnicas colombianas. *Rev. chil. nutr. [online].*, vol.46, n.3, pp.288-294. ISSN 0717-7518.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182019000300288>.
- OMS (2015). Inocuidad de los alimentos. Nota descriptiva N°399.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/es/>
- Orozco, B. (2018). Incidencia de Enterobacteriaceae y Staphylococcus aureus en quesos frescos en empresas del cantón Cayambe. 2018. Tesis de Licenciatura. Quito: Universidad de las Américas, 2018. <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/9974>

- Otero A. (1990). Microorganismos patógenos en el queso. Industrias Lácteas Españolas. Editoril Acribia, S.A. Zaragoza, España
- Pedroza, C. (2017). Detección de bacterias patógenas durante el proceso de elaboración de queso artesanal producido a partir de leche sin pasteurizar bajo buenas prácticas de manufactura en la región de Cobachi: Sonora.
<http://www.repositorioinstitucional.uson.mx/handle/unison/2257>
- Rivera, J.; Mujica, I. (2013). Staphylococcus aureus procedentes de Quesos. Rev. Científica FCVLUZ (XXI). 21(3):202-10.
- Vásquez, A.; Salhuana, J.; Jiménez, D.; Abanto, R.; Leidyn, M. (2018). Evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos en Cajamarca. Ecol. apl. [online]., vol.17, n.1, pp.45-51. ISSN 1726-2216. <http://dx.doi.org/10.21704/rea.v17i1.1172>.