

**UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**



**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE QUESO
FRESCO ELABORADO EN LAS LOCALIDADES DE
LEYMEBAMBA, MOLINOPAMPA Y LA FLORIDA-POMACOCAS,
REGIÓN AMAZONAS**

TESIS

Para obtener el título profesional de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

AUTOR : Bach. Lloisy Calampa Guivin
ASESOR : Ing. Mg. Sc. Armstrong Barnard Fernández Jerí
COASESOR : Ing. M. Sc. Wilmer Bernal Mejía

CHACHAPOYAS – PERÚ

2017

DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional, quien supo guiarme por el camino del bien.

De manera especial a mi familia, quienes me han apoyado y motivado durante mi formación académica, creyeron en mí en todo momento, por su comprensión, paciencia y apoyo con lo necesario para culminar mis estudios, siendo ello los principales promotores de este “sueño alcanzado”.

A mi madre, **Belinda Zuta Santillán**, por estar siempre presente en los momentos buenos y malos que nos traza la vida. Así mismo a **Felipe Calampa López**, mi padre, quien en vida supo inculcarme el valor del estudio y seguir adelante.

AGRADECIMIENTO

Mi agradecimiento se dirige a quien han forjado mi camino y me ha dirigido por el camino correcto, al ser todopoderoso, creador de todo lo maravilla existe en esta vida.

Al laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología de Alimentos de la UNTRM y el proyecto Evaluación Física-química y microbiológica de productos lácteos y cárnicos de origen animal ofertados en la región Amazonas del Programa Nacional de Investigación Agraria-PNIA 2015.

A mis maestros, en especial al Ing. M. Sc. ARMSTRONG B. FERNÁNDEZ JERI, quien depositó mucha confianza en mi persona, durante mi formación y poder culminar el presente trabajo,

Al Ing. M. Sc. WILMER BERNAL MEJÍA por su ayuda y colaboración en el desarrollo del presente trabajo de investigación

A mis compañeros y amigos(as), agradezco de corazón porque cada uno de ellos representan una vivencia diferente, en especial a María Ney Alvares Robledo y Katerin Goñas Vilcarromero, por su apoyo incondicional.

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

JORGE LUIS MAICELO QUINTANA, PhD.

RECTOR

OSCAR ANDRÉS GAMARRA TORRES, Dr.

VICERRECTOR ACADÉMICO

MARÍA NELLY LUJÁN ESPINOZA, Dra.

VICERRECTORA DE INVESTIGACIÓN

ARMSTRONG BARNARD FERNÁNDEZ JERI, Mg. Sc.

DECANO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS

VISTO BUENO DEL ASESOR

El docente de la UNTRM que suscribe hace constar que ha asesorado el proyecto y la realización de la tesis titulada **“EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y MICROBIOLOGA DE QUESO FRESCO ELABORADO EN LAS LOCALIDADES DE LEYMEBAMABA, MOLINOPAMPA Y LA FLORIDA-POMACOCNAS, REGION AMAZONAS”** presentado por Lloisy Calampa Guivin, egresado de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la UNTRM-Amazonas.

Se da el visto bueno al informe final de la tesis mencionada y comprometiéndose a supervisar el levantamiento de las observaciones dadas por el jurado evaluador, para su posterior sustentación.

Chachapoyas, 27 de junio del 2017

Ing. Mg. Sc. ARMSTRONG B. FERNÁNDEZ JERI
Profesor asociado de la UNTRM

DNI :09304921

VISTO BUENO DEL CO – ASESOR

El docente de la UNTRM -Amazonas que suscribe, hace constar que ha asesorado el proyecto y la realización de la tesis titulada **“EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y MICROBIOLOGA DE QUESO FRESCO ELABORADO EN LAS LOCALIDADES DE LEYMEBAMABA, MOLINOPAMPA Y LA FLORIDA-POMACOCHAS, REGION AMAZONAS”** presentado por Lloisy Calampa Guivin, egresado de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la UNTRM-Amazonas, dando el visto bueno al informe final de la tesis mencionada y comprometiéndose a supervisar el levantamiento de las observaciones dadas por el jurado evaluador, para su posterior sustentación.

Chachapoyas, 27 de junio del 2017

Ing. M. Sc. WILMER BERNAL MEJÍA
Profesor invitado de la UNTRM
DNI: 27427399

JURADO EVALUADOR

Ing. Mg. HAROLD PAWEL ORE QUIROZ
PRESIDENTE

Ing. MERE GIDO SILVA RAMÍREZ
SECRETARIO

Ing. Mg. VERONICA ZUTA CHAMOLI
VOCAL

DECLARACIÓN JURADA DE NO PLAGIO

Yo, Lloisy Calampa Guivin identificado con DNI 48165422 estudiante de la escuela profesional de Ingeniería Agroindustrial de la facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

Declaro bajo juramento que:

1. Soy autor de la tesis titulada:

Evaluación fisicoquímica y microbiológica de queso fresco elaborado en las localidades de Leymebamba, Molinopampa y la Florida-Pomacochas, Región Amazonas.

2. La tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente, para la cual se han respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas.
3. La tesis presentada no atenta contra derechos de terceros
4. La tesis no ha ido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional
5. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falsificadas, ni duplicados, ni copiados

Por lo expuesto, mediante la presente asumo toda la responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido de la tesis, así como por los derechos sobre la obra y/o invención presentada. Asimismo, por la presente me comprometo a asumir además todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse para la UNTRM en favor de terceros por motivo de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontraren causa en el contenido de la tesis.

De identificarse fraude, piraterías, plagio, falsificación o que el trabajo de investigación haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones civiles y penales que de mi acción se deriven.

Chachapoyas, 27 de junio de 2017



UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS

ANEXO 2-N

ACTA DE EVALUACIÓN DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS

En la ciudad de Chachapoyas, el día 27 de JUNIO del año 2017, siendo las 11:00 horas, el aspirante: LLOISY CALAMPA GUININ defiende públicamente la tesis titulada: EVALUACION FISICOQUIMICA y Microbiologica DE QUESO FRESCO ELABORADO EN LAS LOCALIDADES DE LEYMEBAMBA, MOLINO PAMPA y LA FLORIDA - POMACCHAS, REGION AMAZONAS para optar el Título Profesional _____ otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, ante el Jurado, constituido por: Presidente: ING. Mg. HAROLD PAWEL JOHAC ORE QUIROZ
 Secretario: ING. MEREGILDO SILVA RAMIREZ
 Vocal: ING. Mg. VERONICA ZUTA CHAMOLI



Procedió el (los) aspirante (s) a hacer la exposición de los antecedentes, contenido de la tesis y conclusiones obtenidas de la misma, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la tesis presentada, los miembros del jurado pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones u objeciones consideraran oportunas, las cuales fueron contestadas por el los aspirante (s).
 Tras la intervención de los miembros del jurado y las oportunas contestaciones del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los miembros del jurado presentes en el acto, a fin de que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.
 Seguidamente, a puerta cerrada, el jurado determinará la calificación global concedida a la tesis, en términos de:

Notable o sobresaliente () Aprobado () No apto ()

Otorgada la calificación el presidente del Jurado comunica, en sesión pública, la calificación concedida. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 12:00 horas del mismo día, el jurado concluye el acto de sustentación de la tesis.

SECRETARIO

PRESIDENTE

VOCAL

OBSERVACIONES:

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
AUTORIDADES UNIVERSITARIAS.....	iv
VISTO BUENO DEL ASESOR.....	v
VISTO BUENO DEL CO – ASESOR.....	vi
JURADO EVALUADOR.....	vii
DECLARACION JURADA DE NO PLAGIO.....	viii
ACTA DE EVALUACIÓN DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS.....	ix
ÍNDICE GENERAL.....	x
RESUMEN.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
I. INTRODUCCIÓN.....	17
II. OBJETIVOS.....	18
2.1. OBJETIVO GENERAL.....	18
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
III. MARCO TEÓRICO.....	19
3.1. La leche y los productos lácteos.....	19
3.2. Antecedentes de la investigación.....	20
3.3. Bases teóricas.....	24
3.3.1. Queso fresco.....	25
3.3.2. Características físico - química del queso.....	26
3.3.3. Aspectos microbiológicos.....	28
Microorganismos indicadores de higiene:.....	29

	Pág.
Microorganismos patógenos.....	31
3.4. Requisitos fisicoquímicos y microbiológicos para el queso fresco	33
3.4.1. Requisitos fisicoquímicos	33
3.4.2. Requisitos microbiológicos	33
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	36
4.1. Ubicación	36
4.2. Diseño de investigación	37
4.3. Población, muestra y muestreo	37
4.4. Análisis fisicoquímicos.....	38
4.5. Análisis microbiológico	39
V. RESULTADOS	41
5.1. Evaluación de las características fisicoquímicos	41
5.1.1. Evaluación de las características fisicoquímicas por localidades	41
5.1.2. Evaluación de las características fisicoquímicas por productores	42
5.2. Evaluación de las características microbiológicos.....	46
5.2.1. Evaluación de las características microbiológicas por localidades	46
5.2.2. Evaluación de las características microbiológicas por productores	49
VI. DISCUSION.....	53
6.1. Análisis fisicoquímico	53
6.2. Análisis microbiológico.....	56
VII. CONCLUSIONES	59
VIII. RECOMENDACIONES	61
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
ANEXOS	70

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Brotes de enfermedades causados por consumo de queso de 1993-2002	22
Tabla 2. Clasificación general del queso por su contenido de humedad y GES	28
Tabla 3. Requisitos fisicoquímicos para el queso fresco.....	33
Tabla 4. Requisitos microbiológicos para el queso fresco	34
Tabla 5. Requisitos microbiológicos	35
Tabla 6. Esquema de la investigación	37
Tabla 7. Media y desviación estándar de acidez titulable, pH y composición proximal de queso fresco por localidades.....	41
Tabla 8. Media de acidez titulable, pH, composición proximal en el queso fresco por productores	43
Tabla 9. Media y desviación estándar de recuento microbiano en queso fresco.....	47
Tabla 10. Media y desviación estándar de recuento microbiano en el queso fresco por localidades	48
Tabla 11. Media del análisis microbiológico de queso fresco por productores	49

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Ubicación geográfica de las zonas de estudio.....	36
Figura 2. Promedio de pH y acidez titulable (%) de queso fresco, Leymebamba.....	44
Figura 3. Valores promedio de pH y acidez titulable (%), en el queso fresco, Molinopampa	45
Figura 4. Promedio de pH y acides titulable (%) de queso fresco, Florida-Pomacochas....	46
Figura 5. Numeración coliforme totales del queso fresco por localidad.....	47
Figura 6. Numeración de coliformes fecales por localidad.....	48
Figura 7. Numeración de coliformes totales y fecales (NMP/g) de queso fresco, Leymebamba	50
Figura 8. Numeración de coliformes totales y fecales (NMP/g) de queso fresco, Molinopampa.....	51
Figura 9. Numeración de coliformes totales y fecales (NMP/g) de queso fresco, Florida- Pomacochas	51

INDICE DE FOTOGRAFIAS

	Pág.
Fotografía 1. Encuestas realizadas en las localidades	73
Fotografía 2. Toma de muestra y traslado a laboratorio.....	73
Fotografía 3. Medición de pH de las muestras de queso fresco	74
Fotografía 4. Determinación de acidez titulable por el método volumétrico	74
Fotografía 5. Extracción de la muestra para el análisis microbiológico.....	75
Fotografía 6. Recuento de bacterias aerobias mesófilos viables	75
Fotografía 7. Recuento de bacterias aerobias mesófilos viables	76
Fotografía 8. Estimación del NMP/g de coliformes Totales y Fecales	76
Fotografía 9. Examinación de presencia o no de gas en la campana de Durham.....	77
Fotografía 10. Determinación de presencia o ausencia de Salmonella sp y Shiguelia en 25g de alimento	77
Fotografía 11. Colonias características de Staphylococcus aureus en agar Salado Manitol	78
Fotografía 12. Prueba de la coagulasa de colonias sospechosas de S. aureus crecidas en agar salado manitol. A la derecha prueba negativa	78

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar las características fisicoquímicas y microbiológicas del queso fresco elaborado en las localidades de Leymebamba, Molinopampa y La Florida-Pomacochas. Se recolectaron 16 muestras de 200g aproximadamente en diferentes centros de expendio. La acidez osciló entre 0.09% a 1.49%, pH entre 5.35 y 6.52. Los quesos frescos concordaron con los requisitos de grasa y proteína, más el 69% cumplieron con los requisitos de humedad. En Leymebamba solo el 20% cumplieron con los requisitos de humedad, en Molinopampa las muestras cumplen con lo establecido en humedad y en Florida-Pomacochas el 86% presentó un contenido de humedad $\geq 46\%$. Las muestras en cumplimiento se clasifican como quesos blandos. Se encontró presencia de enterobacterias y ausencia de *Salmonella sp* y *Shiguella*. El 81.25 % presentaron un recuento de mesófilos aerobios $>10^5$ UFC/g y el 18.75% inferior a 10^5 , para coliformes totales (m :335 NMP/g, M:1100), coliformes fecales (m: 11, M:1100 NMP/g), para *staphylococcus aureus* el 50 % de las muestras presentaron un recuento superior a 10^5 UFC/g. Los resultados de carga microbiana evidencian que la calidad higiénico sanitario de los quesos fresco es deficiente y no cumplen con las normas y regulaciones sanitarias vigentes.

Palabras clave: Queso fresco, Centros de venta, Calidad

ABSTRACT

The objective of the present work was to evaluate the physicochemical and microbiological characteristics of the fresh cheese elaborated in the localities of Leymebamba, Molinopampa and La Florida-Pomacochas. Sixteen samples of approximately 200g were collected in different outlets. The acidity ranged from 0.09% to 1.49%, pH between 5.35 and 6.52. Fresh cheeses matched the fat and protein requirements, plus 69% met the moisture requirements. In Leymebamba only 20% met the requirements of humidity, in Molinopampa the samples comply with the established humidity and in Florida-Pomacochas 86% had a moisture content $\geq 46\%$. Compliant samples are classified as soft cheeses. We found presence of enterobacteria and absence of *Salmonella sp* and *Shiguella*. 81.25% had an aerobic mesophil count $> 10^5$ CFU / g and 18.75% lower than 10^5 , for total coliforms (m: 335 NMP / g, M: 1100), fecal coliforms (m: 11, M: 1100 NMP / g), For staphylococcus aureus 50% of the samples had a count higher than 10^5 CFU / g. The results of microbial load evidence that the hygienic sanitary quality of fresh cheeses is deficient and do not comply with the current sanitary norms and regulations

Key Words: fresh cheese, sales centers, quality

I. INTRODUCCIÓN

El sector agroalimentario contempla actividades en el que participan actores que, interrelacionados entre sí tienen el objeto de agregar valor a un bien o servicio desde su producción hasta el consumo. Las industrias alimentarias rurales y urbanas son actores importantes en los sistemas agroalimentarios, los que pueden tener un impacto positivo en la seguridad alimentaria si tienen la capacidad de ofrecer alimentos inocuos que satisfagan las necesidades de calidad y cultural de la población (FAO, 2008). El perfil del consumidor en los últimos años ha cambiado, pues es más importante la calidad antes que la cantidad, es decir hay preferencia por consumo de alimentos seguros con capacidad de satisfacer las necesidades declaradas o implícitas por el consumidor (Prieto, Mouwen, López, y Cerdeño, 2008).

La problemática de este estudio radica en la comercialización del queso fresco, producto que satisface la demanda nutricional, debido a que en su composición entran prácticamente todos los nutrientes que benefician al ser humano (Hernández, 2013). Asimismo, la calidad juega un papel importante en la decisión de compra, la composición es quien determina características como la textura, que junto con el color y el sabor son variables importantes de consideración inmediata por el consumidor (Saca, 2011). Es importante también, desde el punto de vista saludable, consumir alimentos no contaminados que de lo contrario generen enfermedades (ETA'S). Para los años 1993 al 2002, el sistema regional de información para la vigilancia de las enfermedades transmitidas por alimentos reportó a nivel mundial 451 brotes causados por el consumo de productos lácteos, en el que el 66 % fue causado por el consumo de queso, y entre sus agentes causantes se encontraban *Staphylococcus sp* en un 66% del que el 25% corresponde a *Staphylococcus aureus*, enterobacterias (9%) y otros (25%). Para esos años en el Perú se reportó 12 brotes de enfermedades causados por productos lácteos, de los que el 66.67 % que corresponde a 8 enfermedades fue atribuido al queso, afectando a 162 personas (INPPAZ, 2002).

La presente investigación tiene el objetivo de dar un panorama actual de las características de composición y condiciones higiénicas en la que se oferta el queso fresco elaborado en las localidades de Leymebamba, Molinopampa y La Florida-Pomacochas, teniendo en cuenta la forma de expendio, características fisicoquímicas y microbiológicas.

II. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar las características fisicoquímicas y microbiológicas del queso fresco elaborados en las localidades de Leymebamba, Molinopampa y La Florida-Pomacochas, región Amazonas.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar la característica física química de queso fresco elaborado en las localidades de Leymebamba, Molinopampa y La Florida-Pomacochas.

Determinar la característica microbiológica de queso fresco elaborados en las localidades de Leymebamba, Molinopampa y La Florida-Pomacochas.

Comparar con los parámetros establecidos en la normativa vigente y la relación existente entre las características fisicoquímicas y microbiológicas de queso fresco entre las localidades de estudio.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. La leche y los productos lácteos

La elaboración y el consumo de productos de origen animal han experimentado un rápido crecimiento en todo el mundo y se prevé que continuaran aumentando; pues a nivel mundial, para el año 2050 se pronostica que esta demanda se acreciente en un 70% para alimentar a una población se estima alcance 9600 millones de personas (FAO, 2017).

El consumo de leche y productos lácteos es mayor en los países desarrollados frente a los que están en desarrollo. Sin embargo, se espera también que la demanda se acreciente gracias al aumento de los ingresos, el crecimiento demográfico, la urbanización, los cambios en los regímenes alimentarios y la disminución de los precios (OCDE y FAO, 2016). En la mayoría de estos países, la leche es producida por pequeños agricultores, bajo sistemas agrícolas en pequeña escala, caracterizada por el bajo uso o falta de acceso a buenos insumos, a los mercados de capital, el crédito y la información (Murphy, s.f). Asimismo, los productos lácteos son fuente importante de energía alimentaria, difieren entre países y regiones en un mismo país debido a factores como hábitos alimentarios, las tecnologías de elaboración, la demanda de mercado y las circunstancias sociales y culturales.

En América Latina y el Caribe, el sector lácteo contribuye a la economía de la región, a la producción y exportación de productos de origen animal de alto valor nutricional, y a la seguridad alimentaria de comunidades urbanas y rurales. Según datos de la FAO en el 2011, la producción de leche alcanzó 83.217 millones de litros; Brasil, Argentina y México concentran el 66% de la producción de leche, siendo Brasil el principal productor (responsable del 39% de la producción). El Perú en el mismo año participó con una producción menor a 2500 millones de litros de leche (FAO y FEPALE, 2012).

En el Perú, existen en total 2 260 973 unidades agropecuarias y el 39.01% son unidades agropecuarias de ganado vacuno (MINAGRI, 2014). Amazonas se sitúa en el sexto lugar de las regiones que destacan la actividad pecuaria por hatos lecheros con 6.35 mil vacas en ordeño, debajo de Puno, Cuzco, Lima, Cajamarca, Arequipa y que en conjunto tienen el 64.7% de vacas ordeñadas; por producción de leche fresca: Arequipa con 28

toneladas, Cajamarca con 26.9 toneladas, Lima con 26.7 mil toneladas, Cuzco con 9.0 mil toneladas, Puno con 8.6 mil toneladas y Amazonas con 7.1 mil toneladas, que en conjunto producen el 70.2% del total nacional (Arequipa, Lima y Cajamarca producen el 53.8% del total nacional).

Según MINAGRI (2015), la crianza de ganado vacuno, destinados a la producción de leche, se da principalmente en las cuencas de Bagua Grande, Nueva Esperanza(Cumba), Cajaruro, Molinopampa, Leymebamba y Pomacochas. Los productores se identifican por una agricultura familiar consolidada, ya que esta actividad les permite no solo cubrir sus necesidades familiares debido al autoconsumo, sino también porque generan un excedente comercializable. En la provincia de Chachapoyas, el distrito de Molinopampa se caracteriza por la producción, acopio de leche, obtención de cuajada y derivados, en Leymebamba se encuentran asociaciones en inactividad, la presencia de acopiadores de leche y la elaboración en su mayoría de queso mantecoso. La provincia de Bongará según la dirección agraria de la Florida-Pomacochas cuentan con 33926 vacunos/6107 vacas en producción, así mismo hacen referencia que el distrito de Florida-Pomacochas al 2016 cuenta con una población ganadera de 7356 aproximadamente, con 1324 vacas en producción de leche, alrededor de 7 L por vaca en promedio, con productores independientes y microempresas consolidadas dedicadas a la producción de cuajada, quesos, y otros derivados; productos que se caracterizan por tener mercado en el oriente y este del país (Anexo 6).

3.2. Antecedentes de la investigación

En el mundo se producen gran variedad de quesos, aquellos de consumo inmediato y los que requieren de un tiempo de maduración, para este último se utilizan agentes biológicos como bacterias y hongos que causan variaciones en sus características fisicoquímicos y sensoriales, agradables para un determinado sector de mercado; también existen quesos que incluyen aditivos como hiervas o especias, los que se conocen como ecológicos, estos cumplen la función en algunos casos de conservación por su capacidad de ser inhibidores de microorganismos no deseados. Los quesos se consumen por su valor nutricional y características de aspecto, sabor y textura, propiedades que son percibidas por el consumidor y de importancia debido a que influye en la decisión de compra (Drake & Delahunty, 2017).

La calidad de un queso fresco depende de características sensoriales como el color, sabor y textura dados por su composición, características que se ve afectado por factores como acidez, pH, y actividad de agua, ligados a su formulación, condiciones de proceso, almacenamiento (Ramírez & Vélez, 2012) y época del año. Estas características son propiedades que influyen en la decisión de compra y son percividas durante el consumo.

Gonzáles (2010) estudió al queso fresco elaborado artesanalmente para ver los cambios de composición según época del año, indicó que existen cambios significativos en cuanto al contenido de acidez y sólidos totales, determinó un promedio anual de 0.34% y 35.34% respectivamente, determinó también promedios de 13.24% en grasa, 6.41 en pH, en proteínas un promedio de 17.74 %, para los cuales no hubo diferencias significativas. Asimismo, Rosario & Turpo (2014) consideraron que la acidez para el queso fresco debe ser menor a 2%, humedad \geq 46% y el contenido de proteínas entre 15 - 25%, en base a ello determinaron que el promedio de acidez más alto fue $0.31 \pm 0.13\%$, en cuanto al contenido de humedad reporta que las muestras superaron el 50% en su totalidad y en proteínas se encontraron entre los valores establecidos. Cedeño (2015) encontró promedios de acidez mayores a 0.22% hasta un máximo de 0.57%, un pH alrededor de 6.20, un contenido graso entre 17 y 22%, una humedad mayor a 46 % para todas las muestras.

Las características microbiológicas también juegan un importante papel en la calidad, debido a las enfermedades que puedan generar por el consumo de alimentos contaminados con agentes biológicos o sus toxinas. Al respecto el Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis (INPPAZ) para los años 1993-2002 reportó 451 brotes por consumo de lácteos, del que 297(66 %) de brotes fue causado por consumo de queso (Tabla 1).

Tabla 1. Brotes de enfermedades causados por consumo de queso de 1993-2002

PAIS	CIUDAD	ALIMENTO	ENFERMEDAD	AGENTE ETIOLOGICO	LOCAL	ENFERMOS
<i>Chile</i>		Queso	Colibacilosis	<i>Escherichia coli</i>	Mercado	4
<i>Brasil</i>	Belo Horizonte	Queso	Intox. estafilococcica	<i>Staphylococo aureus</i>	Mercado	3
<i>Brasil</i>	Belo Horizonte	Queso	Intox. estafilococcica	<i>Staphylococo aureus</i>	Vivienda	8
<i>Brasil</i>	Belo Horizonte	Queso Muzarella	Intox. estafilococcica	<i>Staphylococo aureus</i>	Mercado	3
<i>Chile</i>	Sesma	Queso	No Especif.	No Especif.	Puesto callejero	5
<i>Chile</i>	Sesma	Queso	No Especif.	No Especif.	Puesto callejero	4
<i>Chile</i>	Sesma	Queso	No Especif.	No Especif.	Mercado	4
<i>Chile</i>	Araucania	Queso	Intox. estafilococcica	<i>Staphylococo sp</i>	Puesto callejero	7
<i>Chile</i>	Sesma	Queso	Intox. estafilococcica	<i>Staphylococo sp</i>	Puesto callejero	4
<i>Brasil</i>	Distrito federal	Queso	por Bacillus cereus	Bacillus cereus	Hotel/Restaurant e	13
<i>Brasil</i>	Matto Grosso do Sul,	Queso	por coliformes	Coliformes	Mercado	7
<i>Brasil</i>	Parana, Arapongas	Queso colonial	Intox. estafilococcica	<i>Staphylococo aureus</i>	Albergue	7
<i>Brasil</i>	Curitiba	Queso	Intox. estafilococcica	<i>Staphylococo aureus</i>	Vivienda	3
<i>Brasil</i>	Curitiba	Queso	Intox. estafilococcica	<i>Staphylococo aureus</i>	Vivienda	4
<i>Brasil</i>	Curitiba	Queso	Intox. estafilococcica	<i>Staphylococo aureus</i>	Vivienda	4
<i>Brasil</i>	P. Frontim, Parana	Queso	Intox. estafilococcica	<i>Staphylococo aureus</i>	Vivienda	5
<i>Brasil</i>	Porto Alegre, Rio Grande do Sul	Queso	por coliformes	Coliformes	Vivienda	2
<i>Brasil</i>	Viamao, Rio Grande do Sul	Queso	Intox. estafilococcica	<i>Staphylococo aureus</i>	Vivienda	4
<i>Perú</i>	Sullana, Las Lomas	Queso Fresco	No Especif.	No Especif.	Fiesta	29
<i>Perú</i>	Sullana, Salitral	Queso Fresco	No Especif.	No Especif.	Vivienda	4
<i>Perú</i>	Sullana, Tambo Grande	Queso	No Especif.	No Especif.	Club	29
<i>Perú</i>	Sullana, Sullana	Queso	No Especif.	No Especif.	Vivienda	35
<i>Perú</i>	Sullana, Sullana	Queso	No Especif.	No Especif.	Vivienda	27
<i>Perú</i>	Sullana, Tupac Amaru	Queso	No Especif.	No Especif.	Vivienda	12
<i>Perú</i>	Sullana	Queso	No Especif.	No Especif.	Vivienda	20
<i>Perú</i>	Sullana	Queso	No Especif.	No Especif.	Vivienda	6
<i>Brasil</i>	Rio Grande, Rio Grande do Sul	Queso	Intox. estafilococcica	<i>Staphylococo aureus</i>	Vivienda	12
<i>Otros Países</i>		Queso	-	-	-	3733

Fuente: INPPAZ(2002)

Las fuentes de contaminación son diversas y se pueden dar: antes, durante y después de la obtención del producto.

Se considera que las intoxicaciones por el consumo de productos lácteos son causadas principalmente por el empleo de materias primas contaminadas y una inadecuada manipulación (Kousta, Mataragas, Skandamis, & Drosinos, 2010), en el que la leche cruda sin pasteurizar y los manipuladores son fuente potencial de contaminación en la elaboración de quesos (Tarigo, 2012 y Andre´ et al.,2008). Tarigo, al estudiar la calidad higiénico-sanitario de quesos artesanales, determinó que la leche empleada no era apta, pues encontró un recuento máximo de *S. aureus* igual a 10^4 UFC/ml, para coliformes totales un valor máximo de 6.08×10^4 UFC/ml. Sin embargo, el tratamiento térmico empleado como medida de eliminación de carga microbiana no deseada, en algunas ocasiones resultan ser deficientes, así lo inidaron Luigi, Rojas, & Valbuena (2013), quienes encontraron que el 45% de muestras de leche pasteurizada estuvieron por encima del límite establecido para coliformes y un 72% de las mismas exedían el límite para coliformes fecales. Los microorganismos patógenos más importantes aislados de leche cruda son *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *Salmonella sp*, *Campylobacter jejuni*, *Bacillus cereus* y *Yersinia enterocolítica*. De este grupo, *S. aureus* es la más importante, pues es el patógeno causante de infección intra mamarias (Andre´, y otros, 2008) en vacas lecheras y en alimentos al encontrar un recuento superior a 10^5 UFC/g representa un riesgo por la presencia de enterotoxinas suficientes para causar síntomas de intoxicación.

El queso fresco constituye el sustrato adecuado para el crecimiento bacteriano, debido a su alto contenido proteico, humedad, actividad del agua, pH y ligera acidez, que permiten el desarrollo de muchos microorganismos propios de la leche y del ambiente, durante la producción y la manipulación del producto terminado (Cedeño, 2015). Más cuando los quesos son elaborados artesanalmente, son más vulnerables a la contaminación, tal como lo reporta Vásquez, Duran, Sánchez, & Acevedo (2012), que al evaluar a nivel de distribuidores los quesos blancos en el estado de Lara-Venezuela, determinó que la calidad microbiológica fue deficiente evidenciada por un recuento elevado de aerobios mesófilos (28×10^5 - 302×10^5 UFC/g), coliformes totales (10^2 - 10^4 UFC /g), fecales ($<10^2$ - 158×10^3

UFC/g), y *S. aureus* ($>10 - 119 \times 10^2$ UFC/g). Así mismo resultado similares de carga microbiana tuvieron Reséndiz, Hernández, Ramírez, & Pérez (2012), quienes evaluaron la calidad de queso artesanal procedentes de diferentes lugares de elaboración, para bacterias aerobias mesófilas encontraron un recuento promedio de $7,5 > 10^6$ UFC/g, coliformes totales $9,6 > 10^2$ NMP/g; coliformes fecales $8,4 > 10^2$ NMP/g y *E. coli* $2,5 > 10^2$ NMP/g.

Cedeño (2015) al evaluar la calidad de los quesos en diferentes lugares de comercialización: el mercado, tienda, y frigorífico, encontró que la tienda es el lugar que mantiene mejor la calidad de los quesos, sin embargo, en cuanto a calidad microbiológica ningún lugar de comercialización cumple con los criterios microbiológicos.

André et al.,(2008) reportan que el 70.8% (17 /24) muestras de queso fresco analizadas estaban contaminadas con *S. aureus*, y de estas el 54,2% estuvieron por encima de los límites establecidos por la legislación brasilera.

La calidad microbiológica de quesos artesanales en mercados del distrito de pueblo libre, Lima para Delgado y Torres (2003) reflejan deficiencias higiénicas en la manipulación, puesto que las cargas microbianas (bacterias aerobias mesófilas, coliformes totales y fecales, *E. coli*, *S. aureus*, *E. faecalis*) promedio, en un 97,4% de las muestras analizadas estuvieron por encima de los valores máximos permitidos por la Norma Técnica Peruana lo cual representa un riesgo para la salud del consumidor.

Barrientos (2015) señaló que la calidad higiénica del queso fresco tradicional expendido en el Cercado del Callao es deficiente, encontró que el 60% de las muestras estuvieron contaminadas con *E. coli* (promedio de $4,6 \geq 10^2$ NMP/g) y el 69 % contaminadas con *S. aureus* (promedio de $2,6 \geq 10^3$ UFC/g), evidenciando condiciones higiénicas muy deficientes y que estos valores están fuera del límite establecido por la NTP 202.195:2004.

3.3. Bases teóricas

El queso es un producto, cuya referencia más antigua data del año 1800 a. c. El proceso espontaneo como a la mayoría de productos fermentados es el que le dio origen, se generó un producto sólido (cuajada) y un sobrenadante liquido (suero) como consecuencia de la acidificación del medio por la actividad de bacterias acido-lácticas

y la proteólisis de la proteína por la enzima quimosina, de origen animal o fúngico. (Smith, 2004).

3.3.1. Queso fresco

Según la NTP 202.195 2004 es el producto obtenido a partir de leche pasteurizada, sin madurar, que está listo para su consumo poco después de su fabricación. Entre los quesos agrupados como frescos se encuentran los siguientes:

Queso fresco tradicional. Es el queso blanco de corta duración, no madurado ni escaldado, moldeado, de textura relativamente firme, levemente granular, sin cultivos lácticos, obtenido por coagulación enzimática y/o ácida de la leche pasteurizada entera, descremada o parcialmente descremada y su posterior separación del lactosuero.

Queso mozzarella. Pertenece a la familia de quesos de pasta hilada, los que se identifican por ser de textura fibrosa y elástica, originarios del medio oriente y elaborados a partir de cuajada ácida, sometida a una serie de procesos (calentamiento, amasado, salado, y estirado; posteriormente, cortado, moldeado) para ser finalmente enfriado y comercializado. Las variedades de metodologías usadas en función al lugar de elaboración permiten tener una variedad de quesos de pasta hilada y denominaciones diferentes, por ejemplo, en México es queso Oaxaca (conocido también como quesillo), y quesillo en Argentina (Osorio, Rodríguez, & Ramírez, 2010 y García, 2006).

Queso cottage. Según la norma Códex Stan 273-1968, cottage es un queso blando o suave no madurado y sin corteza, de color casi blanco y textura granular o cremosa que consiste en gránulos discretos de cuajada de tamaño relativamente uniforme, de 3-12mm según se desee (cuajada más pequeño o más grande), de alta humedad y preparado con leche descremada, coagulada con enzimas y/o cultivos lácticos, compuestas de grasa láctea inferior al 2% (Walstra, Geurts, Noomen, Jellema, & Van Boekel, 2001).

Queso ricota o requesón. Es el producto elaborado a partir de suero de leche, sustrato económico de gran interés por estar compuesto por lactosa y proteínas globulares, además de vitaminas del grupo B y ácido ascórbico, debido a la coagulación de trazas

de caseína generada por la acción del calor y la adición de cultivos lácticos y ácidos orgánicos en simultaneo ya que las proteínas residuales son de peso molecular relativamente bajo, solubles en su punto isoeléctrico por ello no reaccionan con cuajo (Monsalve y Gonzáles, 2005) . Se describe como un queso de alta humedad, textura granular o blanda, con un contenido de grasa láctea igual o inferior a 0.5% y superior a 4%, cuando se obtiene de suero de leche o cuando se ha empleado leche respectivamente.

Queso mantecoso o cremoso. Este grupo de quesos están compuestos por un contenido relativamente alto en grasa. Para el centro nacional de alimentación y nutrición (CENAN) del Instituto Nacional de salud (2009) un queso mantecoso tiene $\geq 40\%$ de grasa en extracto seco y $\geq 46\%$ de humedad. De textura homogénea, cremosa, no granulada, preparado a partir de crema sola o mezclada con leche y cuajada con cultivos lácticos y opcionalmente con adición de enzimas. Se originó en la región Cajamarca en un contexto de aislamiento; con el objeto de ampliar el tiempo de conservación de la leche se elaboró cuajada o pre-mantecoso para obtener posteriormente a través de la trituration, salado y amasado un queso de características particulares de aroma y sabor (Marie, 2004)

3.3.2. Características físico - química del queso

La obtención del queso implica un proceso por el cual se logra preservar el valor nutritivo de la mayoría de los componentes de la leche: proteínas, grasas, calcio, fosforo y vitaminas liposolubles, generando un alimento atractivo de consumo a nivel mundial. Comparte casi las mismas propiedades nutricionales con la leche, a diferencia de que, en la leche, la lactosa y otros componentes que se encuentran más concentrados (Ramirez y Vélez, 2012). La leche, definida según la NTP 202.001(2003), como secreción láctea de origen vacuno y producto integro sin adición ni sustracción de algún componente, que contiene en suspensión materia proteica, grasa, carbohidratos, vitaminas y minerales (Alais, 1998), proporciona un aproximado de 75 calorías en 100 g, compuesta por 88% de agua y 12.50% de solidos totales aproximadamente, puesto que varían debido a factores externos como alimentación del ganado vacuno, época del

año y otros, de este aproximadamente el 3.20 % son sustancias nitrogenadas (Motta, Rivera, Duque y Guevara, 2014).

Las proteínas son biomoléculas formadas por cadenas lineales de aminoácidos, compuestas por carbono, hidrogeno y nitrógeno que representan el valor nutritivo de los productos concentrados como el queso. La caseína es la proteína más importante de la leche, que representa más del 80 % de sus proteínas totales, la lactoalbúmina y lactoglobulina constituyen las proteínas séricas principales que son arrastradas en el lactosuero (Días, 2010). El queso fresco de vaca según el centro nacional de alimentación y nutrición debe contener 17.50% y un queso mantecoso 28% en contenido de proteínas (CENAN, 2009).

La coagulación de la leche genera la eliminación de suero lácteo, arrastrando también una parte de elementos solubles y proteínas no coaguladas de la leche (lactoalbúmina y lacto globulina); sin embargo, al precipitar las proteínas, arrastran también moléculas de grasas. La grasa en la leche se encuadra distribuida en forma de glóbulos grasos, constituida fundamentalmente por triglicéridos, y en pequeñas cantidades por mono glicéridos, di glicéridos, ácidos grasos libres y otros lipoides como los fosfolípidos, carotenoides, etc. que contribuyen en la textura, sabor y color del queso, la zona superficial o membrana está compuesta por muchos componentes como agua, proteínas, fosfolípidos, glicéridos, ácidos grasos, esteroides, enzimas, etc (Walstra et al, 2001). En los quesos, que tienen un tiempo de maduración y o almacenamiento, antes del consumo, la materia grasa sufre transformaciones que aportan características especiales, organolépticas y físicas que mejoran la consistencia y al rendimiento quesero (Madrid,1990; Chamorro y Lozada, 2002 citados por Gonzáles, 2010). Los cambios sensoriales se deben a la lipolisis enzimáticas de los gliceridos de la leche a ácidos grasos libres generada por el metabolismo de la lipoproteína lipasa presente en la leche cruda y esteroides en los quesos elaborados con cuajo, ácidos grasos que pueden ser precursores de la síntesis de ésteres, lactonas y metilcetonas que se asocian a diversos sabores (Thierry , y otros, 2017); en cuanto a la mejora del rendimiento quesero, Novoa & Lopez (2008) elaboraron queso a partir de leche estandarizada con

dos niveles diferentes de grasa: 0.9 y 5.1%, estas al ser empacadas al vacío y almacenadas a 4°C alrededor de 60 días, determinaron que la concentración de grasa no influye en el tiempo de vida útil sensorial pero sí genera cambios sensoriales favorables de sabor, aroma, textura agradable asociado probablemente a la disminución de pH e hidrólisis de la caseína, además de mejorar el rendimiento quesero hasta un 33% más que el semigraso.

El agua y la lactosa que queda en el queso influye en la textura y primordialmente en el crecimiento microbiano debido a la actividad de agua y fuente de carbonos, el que representa un sustrato rico para la síntesis de ácido láctico (C₃H₆O₃) generando desuerado y ablandamiento de la pasta del queso, determinando así el tiempo de conservación o vida útil y maduración del alimento (González, 2010).

La clasificación general de los quesos por su contenido de humedad (%) y grasa en extracto seco se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Clasificación general del queso por su contenido de humedad y GES

Según su consistencia	Clasificación del Queso		
	Humedad (%)	Según su contenido de materia grasa	Grasa en extracto seco (GES), % m/m
<i>Duro</i>	< 36	<i>Extra graso</i>	≥ 60
<i>Semiduro</i>	36 a 46	<i>Graso</i>	46 a 55
<i>Blando</i>	46 a 55	<i>Semi graso</i>	25 a 45
<i>Muy blando</i>	≥ 55	<i>Semidescremado</i>	10 a 25
	-	<i>Descremado</i>	<10

Fuente: NTP 202.193 2010

3.3.3. Aspectos microbiológicos

Según la dirección general de salud ambiental, los microorganismos se agrupan como:

Microorganismos indicadores de alteración

Bacterias aerobias mesófilas viables: Bacterias que pertenecen al grupo de microorganismos indicadores de alteración, indicando materias primas contaminadas, condiciones inadecuadas de procesamiento, conservación y la proximidad de alteración

de un producto. Al superar el límite de UFC/g indica que el alimento está en proceso de descomposición

Microorganismos indicadores de higiene:

Enterobacterias: Las bacterias entéricas pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*. Se las denomina entéricas por la ubicación habitual como saprófitos que tienen en el sistema gastrointestinal formando la microflora normal de animales, además del ser humano, están presentes en el suelo, agua y la vegetación (medio ambiente) (Puerta García & Mateos Rodríguez, 2010). La flora microbiana normal, microflora o microbiota está compuesta por los diferentes microorganismos que habitan en la parte interna y externa de los seres humanos convencionalmente sanos, ya sean bacterias, hongos, protozoarios u otros que no hacen daño, si no son benéficas para el hospedero realizando funciones metabólicas de recuperación de energía, nutrientes y de protección ante agentes perjudiciales o patógenos creando un ambiente inadecuado para la colonización de las mismas, así lo indican Guarner(2007) y (Gamiño Arroyo, Barrios Ceballos, Cárdenas de La Peña, Anya Velázquez, & Padilla Vaca, 2005). Son bacilos Gram negativos, aerobios y anaerobios facultativos, no esporulados, móviles o inmóviles. A excepción de los géneros *Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia*, este grupo son parte de la microbiota normal del tracto intestinal de animales superiores. Los géneros de bacterias pertenecientes a esta familia son: *E. coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Yersinia*, etc.

Coliformes: El término coliformes agrupa a bacterias que tienen características bioquímicas en común como: aerobias o anaerobias facultativas, no esporulados, bacilos Gram negativos, oxidasa negativos, no ser esporógenas y, su capacidad de fermentar la lactosa con producción de CO₂ a 35°C en 48 horas. Pertenecen a la familia de *Eenterobacteriaceae*, los géneros que agrupa son *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, cuyo hábitad natural es principalmente es el contenido de intestino de los humanos y de los animales de sangre caliente, además de estar distribuidos en el medio ambiente, puesto que a excepción de *E. coli*, ninguno indica

contaminación fecal y pueden presentarse en el alimento por contacto de este último con el medio ambiente (Muñoz, 2007) y (Roman , 2016).

Por lo general el grupo de bacterias coliformes, a excepción de *E. coli* principalmente no son resistentes a temperaturas de pasteurización, por lo que la presencia en la leche o en los productos lácteos se debe a una posterior contaminación durante la elaboración, por ejemplo, de bacterias de origen no fecal como *Enterobacter aerogenes*, o en caso de una inadecuada higiene por los agentes de manufactura por bacterias de origen fecal como *E. coli*. Sin embargo, el desarrollo de estas bacterias esta siempre en función a factores internos del alimento (sustrato, pH y aw) y del medio ambiente como la temperatura. En caso de ser favorables pueden ocasionar alteraciones de flavor en los quesos, pero no necesariamente de textura puesto que este último está en función de otras reacciones químicas(Walstra et al, 2001).

Coliformes termo tolerantes o fecales: Se denominan así a las bacterias que se desarrollan entre 42°C a 45°C y en su mayoría de origen fecal, por lo que se les considera indicadores de calidad higiénica de los alimentos. *E. coli* es la especie más representativa y de importancia de este grupo, puesto que algunas cepas son patógenas para el hombre como las cepas de *E. coli* enterotoxígeno, causante de enfermedades comunes como la diarrea principalmente en niños y turistas, debido a la síntesis de toxinas que afectan las células del epitelio intestinal con la posterior secreción de agua y electrolitos generando heces acuosas (Pascual, Calderon, & Pascual, 1999), *E. coli* entero patogénico causantes de lesiones en la mucosa lo que le permite colonizar el medio y la vez generando la perdida de microvellosidades, *E.coli* entero invasivas capaces de invadir las células y cepas de *E. coli* enterohemorrágica sobre todo las que pertenecen al serotipo O157:H7, esta última y otras cepas son productores de toxina de tipo shiga también llamadas verotoxinas que inducen la muerte de la célula huésped; estos son algunos de los serotipos patógenos que pueden causar gastroenteritis en humanos y animales (Puerta - García & Mateos - Rodríguez, 2010).

Pertenecen a este grupo *Citrobacter Freundii*, *Klensiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, estos últimos tienen un hábitat que a diferencia de *E. coli* está asociado a la vegetación y ocasionalmente aparecen en el intestino.

Microorganismos patógenos.

Salmonella sp: Son bacilos cortos, Gram -, anaerobios facultativos, se desarrollan a una temperatura mínima de 5 °C y máxima de 38°C, necesitan además un pH entre 6.2 y 8.2 para que su crecimiento sea óptimo. Poseen un metabolismo oxidativo y fermentativo que a excepción de *S. typhi*, fermentan glucosa sintetizando ácidos y gas, capaces también de ocasionar la reducción de nitrato a nitritos, utilizan citrato como única fuente de carbono para producir ácido sulfúrico, son ureasa negativa, no desaminan fenilalanina y son tetrionato reductasas (Forcythe, 2003).

De importancia en análisis de alimentos, pues pertenece al grupo de microorganismos patógenos cuya sola presencia en los alimentos condiciona su peligrosidad para la salud. Gran cantidad de especies de *Salmonella* son causantes de infecciones intestinales, el periodo de incubación es de 16 a 72 horas y la dosis infectiva varía en función de la edad y estado de salud de la víctima. Estas bacterias pasan las barreras defensivas del ácido gástrico, del lumen intestinal al intestino delgado, se multiplican y generan alteración histopatológica como diarreas, náuseas, dolor abdominal, fiebre, escalofríos, vómitos y cefaleas (Forcythe, 2003), por ejemplo la fiebre tifoidea es una enfermedad causada por *S.Typhi*, *S. Parathyphi* y casualmente por *S.Typhimurium*, donde las hemorragia digestiva, la perforación intestinal y los aneurismas micóticos, representan las complicaciones graves (Puerta & Mateos, 2010).

Los reservorios de la infección humana son los animales como mamíferos, aves, insectos, la cual es adquirida por vía oral a través del consumo de alimentos contaminados, especialmente aves y huevos. Un factor para la contaminación del alimento es la exposición a ciertos vectores como la mosca doméstica, además para que cualquier alimento susceptible de contaminación pueda transmitir la infección, es importante el periodo de multiplicación antes del consumo, el que se da cuando el

alimento se encuentra condiciones inadecuadas de almacenamiento como temperaturas ambientales (Parra, Durango, & Máttar, 2002).

Shigella: A este género se le atribuye enfermedades como la disentería bacilar, un cuadro similar al causado por sepas entero hemorrágicas o entero invasivas de *E.coli*.

Staphylococcus aureus: Es una especie halófila (tolerancia y o afinidad a las sales), morfológicamente son cocos Gram positivas, anaerobio facultativo, como límites microbianos de crecimiento requiere de una a_w mínima de 0.83, su crecimiento transcurre óptimamente a valores de pH de 6-8, con un mínimo 4 y máximo de 10, es un mesófilo cuyo intervalo de crecimiento es a temperatura de 7 a 50°C, siendo el óptimo de 35°C-40°C, pero la forma vegetativa si se destruye a 65.5°C en un periodo de 0.2-2 minutos (Forcythe, 2003) y (Adamas y Moss, 1995).

Son indicadores de una inadecuada manipulación de alimentos, cuyo hábitat incluyen las fosas nasales, nasofaringe, la piel y en menor medida el perineo, el tracto gastrointestinal y genital de animales de sangre caliente (Manzo, Flores, y Padilla, 2014). Es la principal especie patógena de su género, son causa común de infecciones piógenas en piel y otros padecimientos, además se ha convertido en la principal causa de infecciones en el torrente circulatorio y en intoxicaciones ocasionadas por los alimentos que requieren mucha manipulación para su elaboración y/o transformación, envasado y almacenamiento en condiciones inadecuadas de temperatura relativamente altas, humedad que promoverán la proliferación microbiana en los alimentos. Estas toxinas son resistentes a enzimas proteolíticas y temperatura de 98.9°C por 2 horas. Un recuento de 10^5 UFC/g de alimento, indica presencia de la cantidad suficiente de toxina (1µg/ kg de alimento para generar síntomas de intoxicación como gastroenteritis (Forcythe, 2003).

Algunas de las toxinas producidas por *S. aureus* son las toxinas exfoliativas A y B, toxina del síndrome de choque tóxico TSS-1, citotoxinas que comprende a hemolisina α , β y γ , enterotoxinas estafilocócicas por ejemplo A, B, C y D, etc. En la familia de

enterotoxinas, la enterotoxina tipo A es la más frecuente relacionada con las intoxicaciones alimentarias (Otto, 2014).

Es importante entonces que los fabricantes de alimentos, en este caso para los derivados lácteos, realicen un tratamiento térmico por encima de los 45°C, óptimamente de 65°C por 30 minutos para asegurar la inactivación de *S. aureus*, mantener la cadena de frío en el transporte y almacenamiento (Elika, 2013).

3.4. Requisitos fisicoquímicos y microbiológicos para el queso fresco

Los quesos frescos, y en general cualquier derivado lácteo deberán elaborarse exclusivamente con leche pasteurizada y bajo estrictas condiciones higiénico-sanitarias, en el que características como la apariencia, textura, color, olor y el sabor deberán corresponder del tipo de queso, además deberán estar exentas de sustancias extrañas y ser almacenadas según la NTP 202.195 a temperaturas de refrigeración (2 a 8 °C) para su conservación, hasta su consumo.

3.4.1. Requisitos fisicoquímicos

Los requerimientos fisicoquímicos, de composición para el queso fresco se muestran la siguiente tabla:

Tabla 3. Requisitos fisicoquímicos para el queso fresco

Requisitos	A base de leche entera	A base de leche parcialmente descremada	A base de leche descremada
Materia grasa en el extracto seco (% m/m)	≥40	≥15	<15
Humedad (% m/m)	≥46	≥46	≥46
Prueba de fosfatasa(unidades)	máx.2	máx.3	máx.4

Fuente: NTP 202.195

3.4.2. Requisitos microbiológicos

Para asegurar la inocuidad de un producto manufacturado es importante la adopción del sistema de análisis de peligros y puntos críticos de control - HACCP. Sin embargo,

previo a la implementación de un plan HACCP se debe cumplir con programas de prerrequisitos como la buena práctica de fabricación (BPF), que establecen normativas con respecto a edificaciones, equipos, utensilios, persona, etc. y los procedimientos operativos estandarizados de saneamiento (POES) que determinan los procedimientos de higiene y saneamiento de la planta y de los trabajadores.

De tal manera que la elaboración de un producto se debe conocer y respetar las normativas y procedimientos indicados, puesto que ya sea antes, durante o después del proceso productivo, se puede perder las características fisicoquímicas y microbiológicas que determinan la calidad de un producto, generando pérdidas económicas. Las variaciones en las características pueden ser ocasionadas por un inadecuado control de parámetros, poca higiene de los trabajadores, y condiciones de almacenamiento que permiten la contaminación y proliferación de los microorganismos al encontrar un medio rico en sustratos y condiciones como la actividad de agua, humedad, temperatura, etc. que dan viabilidad a su crecimiento.

Los criterios microbiológicos para el queso fresco establecidos por la NTP 202.195, que representan un requisito indispensable para ser considerado un alimento apto para el consumo se exponen en la siguiente tabla.

Tabla 4. Requisitos microbiológicos para el queso fresco

Requisitos	n	m	M	C	Métodos de ensayo
Coliformes a 30 °C/g	5	10 ²	10 ³	2	FIL-IDF 73B:1998
Coliformes a 45 °C/g	5	10	10 ²	2	APHA:1992C.24
Estafilococos coagulasa positivos/g	5	10	10 ²	1	FIL-IDF 145A:1997
<i>Salmonellas sp</i> /25 g	5	0	0	0	FIL-IDF 93B:1995
<i>Listeria monocytogenes</i> /25g	5	0	0	0	BAM/FDA:1995

N: número de muestras/ m: Limite que separa la calidad aceptable de la rechazable/ M: Recuentos superiores a M son inaceptables /C: Número máximo de muestras rechazables o con un recuento entre “m” y “M”, según plan de muestreo.

Fuente: NTP 202.195

Así mismo los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano establecidos por la NTS N°071-MINSA/

DIGESA-V.01 que establece los criterios microbiológicos para los alimentos y bebidas de consumo humano; para quesos no madurados establece lo siguiente:

Tabla 5. Requisitos microbiológicos

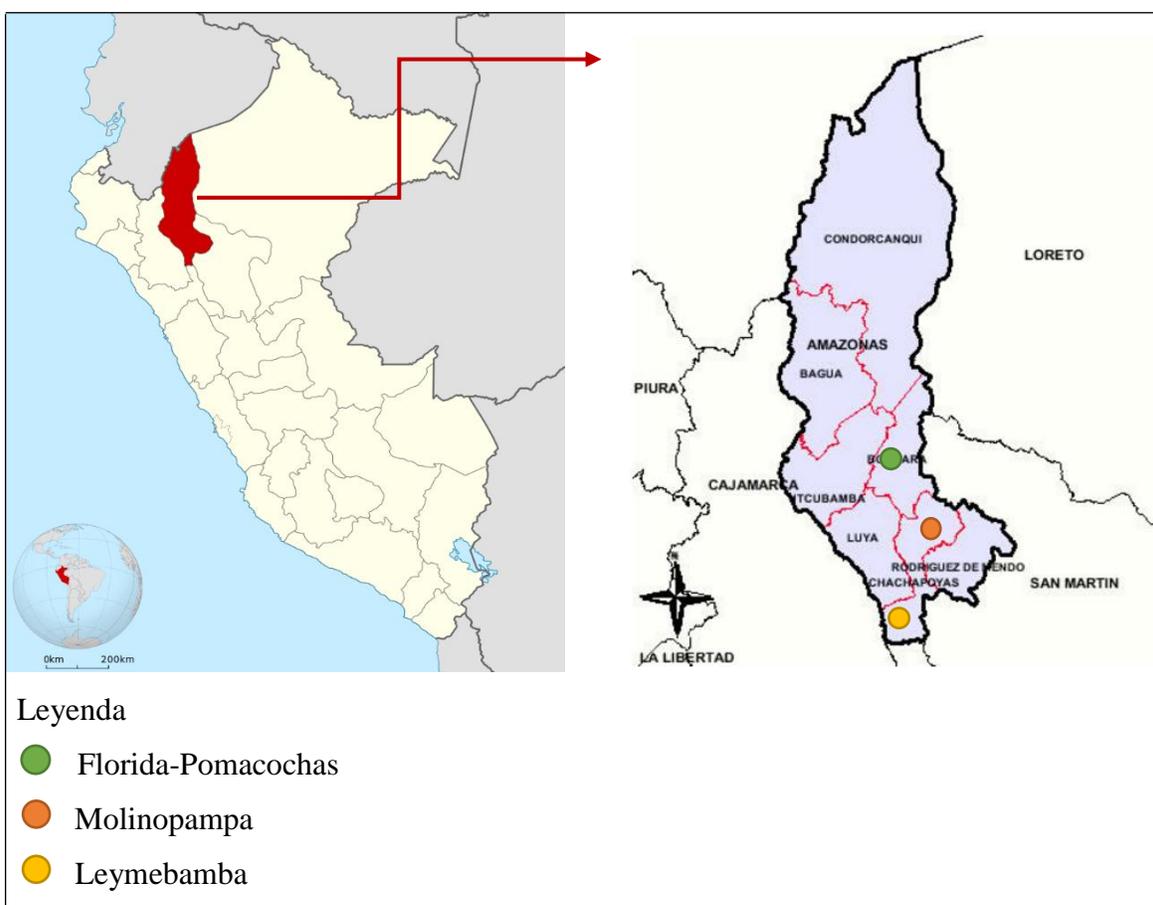
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g	
					m	M
coliformes	5	3	5	2	5×10^2	10^3
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3	5	2	10	10^2
<i>Escherichia coli</i>	6	3	5	1	3	10
<i>Listeria monocytogenes</i>	10	2	5	0	Ausencia/25 g	-
<i>Salmonella sp</i>	10	2	5	0	Ausencia/25 g	-

Fuente: NTS N°071-MINSA/ DIGESA-V.01

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se ejecutó en las cuencas lecheras pertenecientes a la región Amazonas. Molinopampa se ubica a una altitud de 2400 msnm en las coordenadas $6^{\circ}11'45''S$ $77^{\circ}38'15''O$, Leymebamba se ubica a 2158 msnm en las coordenadas $6^{\circ}40'59''S$ $77^{\circ}46'59''O$ y, en la provincia de Bongará, el distrito de Florida-Pomacochas se encuentra ubicado a 2280 msnm en las coordenadas $5^{\circ}50'0''S$ $77^{\circ}55'0''O$.



Fuente: <http://www.perutoptours.com/index01ammapa.html>

Figura 1. Ubicación geográfica de las zonas de estudio

El análisis microbiológico se realizó en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ingeniería y Ciencia Agrarias (FICA) y el análisis fisicoquímico se realizó en el laboratorio

de Nutrición Animal y Bromatología de Alimentos del Instituto de Investigación Ganadería y Biotecnología (IGBI) de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza.

4.2. Diseño de investigación

La naturaleza de la presente investigación fue de tipo descriptivo, se presenta en detalle la calidad del producto en base a las características fisicoquímicas y microbiológicas. Los factores que se utilizó son: la localidad o procedencia y lugares de comercialización (centros de venta).

Tabla 6. Esquema de la investigación

Localidad	codificación	Repetición
Leymebamba	ML - P1	2
	ML - P2	2
	ML - P3	2
	ML - P4	2
	ML - P5	2
Molinopampa	MM -P1	2
	MM -P2	2
	MM -P3	2
	MM -P4	2
Florida- Pomacochas	MF -P1	2
	MF -P2	2
	MF - P3	2
	MF - P4	2
	MF - P5	2
	MF - P6	2
	MF - P7	2

ML: Muestras de Leymebamba /MM: Muestras de Molinopampa /MF: Muestras de Florida -Pomacochas /

P: Productor

4.3. Población, muestra y muestreo

Población y muestra

Constituido por unidades de queso fresco elaborado por todos los productores de derivados lácteos localizadas en los distritos de Molinopampa, Pomacochas, principales cuencas ganaderas de la región Amazonas.

Muestreo

Se ubicaron los centros de ventas de derivados lácteos y se tomaron las muestras de cada productor, según localidad de procedencia. El muestreo se realizó en base a la Norma FIL 50C :1995, ISO 707:1997, AOAC 968.12 (CODEX ESTAN 234-1999). Las muestras se tomaron entre 9 a 10 am, las cuales fueron empacadas en bolsas plásticas de primer uso, colocándolas luego en un envase aséptico, para su traslado y posterior análisis en los laboratorios de la UNTRM.

La cantidad de la muestra fue de aproximadamente 200 g, y cada uno conto con una ficha de identificación (Anexo 7).

4.4. Análisis fisicoquímicos.

La preparación de la muestra consistió en obtener una pasta homogénea por trituración directa en un mortero. Finalmente se determinaron los siguientes parámetros:

pH: Por el método AOAC 981.12 / 90 (Ballesta, 2014). Para medir la concentración de iones H^+ libres se utilizó un potenciómetro digital de marca OAKTON pH450, por inmersión del electrodo en la muestra previamente diluida en agua destilada, con previa calibración en buffer de pH de 4 y 7.

Acidez titulable: La acidez titulable dada por la acidez desarrollada en las muestras, se determinó por métodos volumétricos, midiendo los volúmenes (Anexo 8). Se mide la cantidad necesaria de NaOH al 0.1N (titulante), para neutralizar iones H^+ libres además de sustancias como el ácido láctico ($C_3H_6O_3$) presente en 1 g de muestra diluida en 9ml de agua destilada, cuyo punto final de la reacción se observa cuando el indicador, es decir la fenolftaleína ($C_{20}H_{14}O_4$), en un medio básico vira a color rosa grosella.

Humedad: Se utilizó el método gravimétrico por estufa, basado en la pérdida de peso de la muestra por calentamiento en una estufa el tiempo necesario, el procedimiento se detalla en el Anexo 8.

Grasa total: La determinación de materia grasa se realizó por el método de extracción – Soxhlet con el equipo Soxhlet Det Gras Selecta N H.W (Anexo 9).

Proteína: La determinación del nitrógeno total se realizó por el método Kjeldahl, utilizando el equipo Kjeldahl Pro Nitro A Selecta (Anexo 10).

4.5. Análisis microbiológico

Se determinaron los siguientes parámetros microbiológicos, bajo las siguientes metodologías y los procedimientos se describen en el Anexo 12.

Cuantificación de microorganismos mesófilos aerobios. Se utilizó el método de recuento en placa (Adamas & Moss, 1995 y DIGESA, 2001)

Determinación de presencia y/o ausencia de entero bacterias. Se utilizó el método de siembra en placa y la técnica de siembra por estría.

Cuantificación de bacterias coliformes. Para estimar el número de bacterias coliformes totales se utilizó el método de tubos múltiples de fermentación, la técnica del número más probable (Adamas & Moss, 1995), el cual basándose en la combinación de tubos positivos nos proporciona una estimación estadística de la densidad microbiana presentes en las muestras analizadas. El NMP se obtiene recurriendo a la tabla estadística del Anexo 5. El principio del método utilizado se basa en la fermentación de la lactosa en los tubos múltiples formando ácido y gas dentro de 24 horas a 35°C. (DIGESA, 2001)

Para estimar el número de bacterias coliformes fecales o termo tolerantes, se utilizó también la técnica del número más probable (NMP/g), el método se basa en la fermentación de lactosa con producción de gas a 44.5°C realizada en tubos múltiples.

Determinación de *Salmonella sp* y *Shiguella*. Se aplicó el método de ensayo de presencia y ausencia adoptado de método de análisis establecido en el manual de análisis de microbiología de alimentos (DIGESA, 2001). Las muestras fueron preenriquecidas en medio no selectivo (caldo peptona al 1%), el aislamiento se realizó por siembra en medio *Salmonella – Shiguella* e incubación a 37 °C por un tiempo de 24 a 48 horas, finalmente la identificación bioquímica realizando siembra en agar triple azúcar hierro (TSI), agar lisina hierro(LIA) y agar citrato de Simmons, incubación a 35 °C ± 1 °C durante 24 h ± 3 h.

Numeración de *S. aureus*. Se utilizó el método de recuento en placa, basado en el método BAM, capítulo 12 (Reginald, Bennett, y Lancette, 2001) y método establecido por el

manual de análisis microbiológico de alimentos (DIGESA, 2001). Sin embargo, se realizó una modificación en el medio de cultivo utilizado; es decir se utilizó agar salado manitol el cual es un medio selectivo y diferencial para bacterias del genero *Staphylococcus*, recomendado para aislamiento de *S. patogénicos* a partir de muestras clínicas, alimentos, productos cosméticos y otros materiales de importancia sanitaria (HIMEDIA, 2015).

V. RESULTADOS

5.1. Evaluación de las características fisicoquímicos

5.1.1. Evaluación de las características fisicoquímicas por localidades

En la tabla 7 se describe los valores de acidez, pH y la composición proximal promedio del queso fresco ofertado en las localidades de Molinopampa, Leymebamba y Florida – Pomacochas. Además, se muestra en el Anexo 15 el análisis de varianza para cada uno de los parámetros estudiados.

Análisis del contenido de acidez. El queso fresco procedente de la localidad de Florida-Pomacochas evidenció el contenido más bajo, $0.33 \pm 0.33\%$ de ácido láctico, seguido por Leymebamba 0.89 ± 0.12 y Molinopampa con 0.74 ± 0.13 . Existe diferencias significativas.

Análisis del contenido de pH. El valor más bajo(ácido) corresponde a las muestras procedentes de Molinopampa, con un valor de 5.68 ± 0.13 , por debajo de Leymebamba con 5.72 ± 0.11 y Florida - Pomacochas con 6.15 ± 0.10 , el valor $p < 0.05$ y existen diferencias significativas.

Tabla 7. Media y desviación estándar de acidez titulable, pH y composición proximal de queso fresco por localidades

Parámetro	Leymebamba	Molinopampa	Florida-Pomacochas
	Promedio \pm S	Promedio \pm S	Promedio \pm S
Acidez Titulable (%)	$0.89^a \pm 0.12$	$0.74^a \pm 0.13$	$0.33^b \pm 0.33$
pH	$5.72^b \pm 0.11$	$5.68^b \pm 0.13$	$6.15^a \pm 0.10$
Humedad (%)	$44.44^b \pm 1.70$	$51.05^a \pm 1.90$	$54.68^a \pm 1.43$
Grasa (%)	$32.69^a \pm 0.85$	$26.04^b \pm 0.95$	$27.83^b \pm 0.72$
Grasa en el extracto seco (%)	$58.23^{ab} \pm 2.66$	$52.86^b \pm 2.97$	$62.68^a \pm 2.25$
Proteína	$24.94^a \pm 0.79$	$16.93^b \pm 0.88$	$17.36^b \pm 0.66$

Letras diferentes en la columna a, b, muestran diferencias significativas a un nivel de confianza ($p < 0.05$)

Análisis del contenido de humedad. La localidad en la que el producto tuvo el mayor porcentaje de humedad fue la Florida-Pomacochas con 54.68%, a diferencia de Molinopampa con 50.78% y Leymebamba que obtuvo el menor porcentaje de humedad con 44.44%. Por lo que los resultados presentaron diferencia significativa siendo el valor P de la prueba F menor a 0.05.

Análisis del contenido en grasa total y grasa en extracto seco. El promedio de contenido de grasa según lugares de procedencia osciló entre 26.04% y 32.69%. Molinopampa presenta el menor valor con 26.04 %, por debajo de Florida-Pomacochas con 27.83% y Leymebamba con 32.69 %. Asimismo, el contenido de grasa en extracto seco, mayor a 40%, en el que Florida Pomacochas presentó en promedio 62.68 %, superior a los promedios de 58.23% y 52.86% que corresponden a Leymebamba y Molinopampa respectivamente. El valor p de la prueba F, para los resultados de contenido en materia grasa es menor a 0.05, por lo que existe diferencia significativa.

Análisis del contenido de proteínas. Los contenidos de proteína en el queso fresco ofertado en las localidades son similares, alrededor de 17%, con un máximo valor mayor a 24 %. Del análisis de varianza se tiene que el valor $p < 0.05$, lo que indicó que los promedios de las muestras procedentes de cada localidad son significativamente diferentes, el resultado está en el rango de 17 y 25 %.

5.1.2. Evaluación de las características fisicoquímicas por productores

En la tabla 8 se muestra la media del contenido de acidez, pH y la composición proximal del queso fresco procedente de dieciséis productores. Se observa que no hubo diferencias significativas en cuanto al contenidos de humedad en el que los valores fluctuaron entre 42 a 60%, para el cual el valor p es mayor a 0.05. Sin embargo, los resultados de análisis de acidez, pH, contenido graso, grasa en extracto seco y proteínas presentan diferencias significativas (ver Anexo 15).

Tabla 8. Media de acidez titulable, pH, composición proximal en el queso fresco por productores

Código	Acidez titulable (%)	pH	Humedad (%)	Grasa (%)	Grasa en el extracto seco (%)	Proteína
ML - P1	0.63 ^{bcd}	5.84 ^{abc}	44.32 ^a	37.29 ^a	66.97 ^{ab}	22.76 ^b
ML - P2	0.45 ^{bcd}	5.95 ^{abc}	43.98 ^a	29.59 ^{bcd}	49.43 ^b	27.91 ^a
ML - P3	1.49 ^a	5.42 ^{bc}	46.68 ^a	34.72 ^{ab}	65.03 ^{ab}	17.83 ^c
ML - P4	0.90 ^{abc}	5.59 ^{abc}	45.17 ^a	30.65 ^{abcd}	55.91 ^{ab}	27.86 ^a
ML - P5	0.99 ^{ab}	5.78 ^{abc}	42.02 ^a	31.19 ^{abc}	53.80 ^{ab}	28.36 ^a
MM- P1	0.54 ^{bcd}	6.05 ^{abc}	49.14 ^a	26.40 ^{cd}	51.90 ^b	17.05 ^c
MM- P2	0.45 ^{bcd}	5.91 ^{abc}	52.97 ^a	25.07 ^{cd}	53.30 ^{ab}	16.73 ^c
MM- P3	0.54 ^{bcd}	5.35 ^c	49.14 ^a	28.94 ^{bcd}	56.77 ^{ab}	17.51 ^c
MM- P4	1.44 ^a	5.41 ^{bc}	52.97 ^a	23.75 ^d	49.43 ^b	16.44 ^c
MF - P1	0.09 ^d	6.19 ^{abc}	55.34 ^a	25.15 ^{cd}	56.35 ^{ab}	17.41 ^c
MF - P2	0.45 ^{bcd}	6.08 ^{abc}	51.74 ^a	26.05 ^{cd}	54.31 ^{ab}	17.70 ^c
MF - P3	0.09 ^d	6.45 ^{ab}	57.23 ^a	27.12 ^{cd}	63.40 ^{ab}	17.35 ^c
MF - P4	0.14 ^{cd}	6.52 ^a	57.22 ^a	27.64 ^{bcd}	64.67 ^{ab}	16.80 ^c
MF - P5	0.36 ^{bcd}	6.18 ^{abc}	55.43 ^a	28.69 ^{bcd}	64.46 ^{ab}	17.59 ^c
MF - P6	0.86 ^{abcd}	5.41 ^{bc}	45.16 ^a	30.14 ^{abcd}	56.61 ^{ab}	16.94 ^c
MF - P7	0.32 ^{bcd}	6.21 ^{abc}	60.62 ^a	30.05 ^{bcd}	78.94 ^a	17.73 ^c

ML: Muestras de Leymebamba/ MM: Muestras de Molinopampa / MF: Muestras de Florida -Pomacochas/ P: Productor

Letras diferentes en la columna a, b, c, d, muestran diferencias significativas a un nivel de confianza ($p < 0.05$)

En Leymebamba, la muestra 3 presentó el % de acidez más elevado con 1.49%, los valores promedio de pH estuvieron entre 5 y 6 (Figura 2). El porcentaje de humedad osciló entre 42.02 y 46.68%, de hecho, solo el productor 3 tiene un porcentaje mayor a 46%, en cuanto al porcentaje de grasa, los resultados estuvieron por encima del 29.59% hasta un valor máximo de 37.29%, para grasa en extracto seco los resultados son mayores a 49% y mayores a 60% hasta un valor máximo de 66.97%. En cuanto al contenido de proteínas, el valor mínimo fue de 17.83 que corresponde al productor 3, para los demás, los valores fluctúan entre 22% y 28 %.

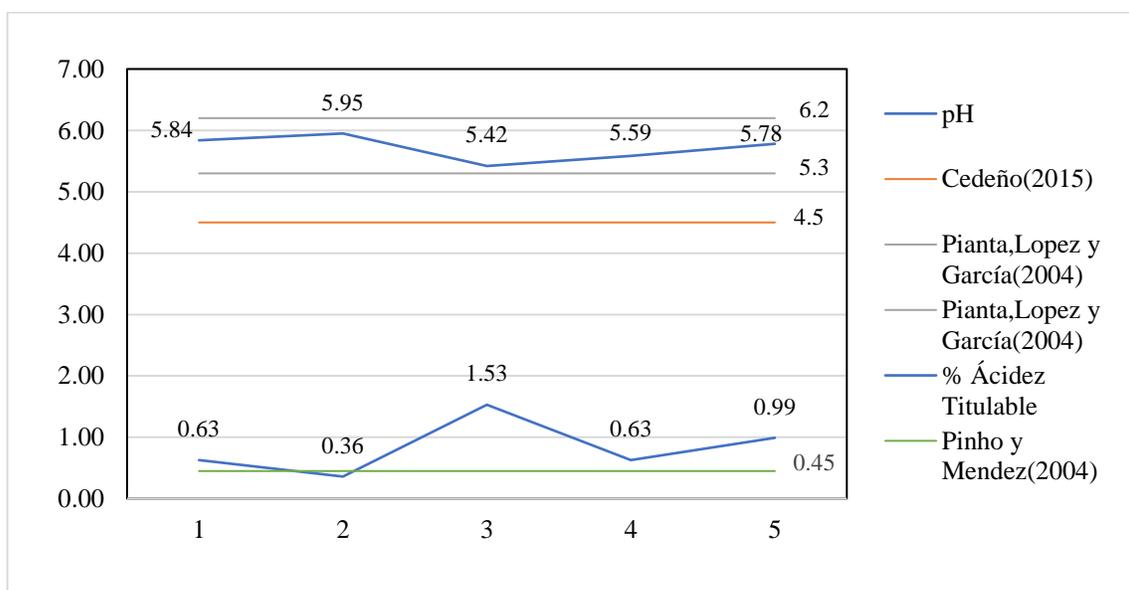


Figura 2. Promedio de pH y acidez titulable (%) de queso fresco, Leymebamba

En Molinopampa, se encontró que el valor mínimo de pH fue 5.35, que corresponde al productor tres, el contenido de humedad osciló entre 49 y 53%; el porcentaje de grasa mínimo fue 23.75% y máximo 28.94%, para grasa en extracto seco las muestra cuatro presentó un contenido entre 46 a 55%, no obstante, las muestras 1 y 2 presentaron valores mayores a 50%, en cuanto al porcentaje de proteínas son mayores a 16% y menor a 18%. Asimismo, en la figura 3 se exponen los valores promedios de pH y acidez para cada una de las muestras, se observa que los valores de pH fluctúan entre 5 y 6, además el 50% de las muestras presentan un contenido de acidez equivalente a 0.54%, el 25% tiene un 0.45

que a la vez es el valor mínimo, solo la muestra de productor cuatro tuvo un porcentaje máximo de acidez igual a 1.44.

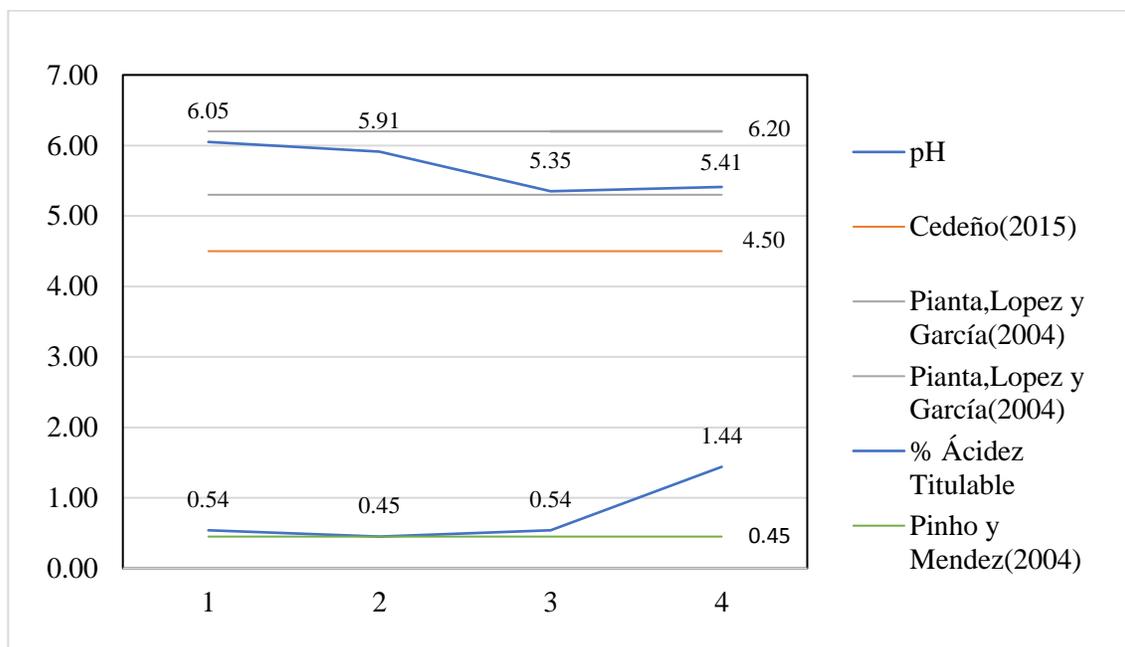


Figura 3. Valores promedio de pH y acidez titulable (%), en el queso fresco, Molinopampa

Los resultados de acidez titulable y contenido de pH de queso fresco elaborado en la localidad de Florida-Pomacochas se muestran en la Figura 4. El porcentaje de acidez titulable presentó variaciones, es decir se encontró valores menores a 0.14% con un mínimo de 0.09%, las muestras uno y tres tuvieron un contenido mayor a 0.32%, con un máximo de 0.86% de ácido láctico, el cuanto al pH el 14.29% presentó un promedio menor a 5.41 y el 85.71% un valor mayor a 6.00. El % de humedad estuvo entre 50% y 61%, sin embargo, solo la muestra del productor seis es 45.15 %. El porcentaje de grasa estuvo entre 25.15% y 30.14%, el 71.43% de muestras de queso fresco, que corresponde a 5 productores, presentaron un contenido de grasa en extracto seco mayor a 60%. El porcentaje de proteínas fue mayor a 16 % y menor a 19%, el valor máximo corresponde al productor cinco con 18.59, y el mínimo para el productor tres con 16.85.

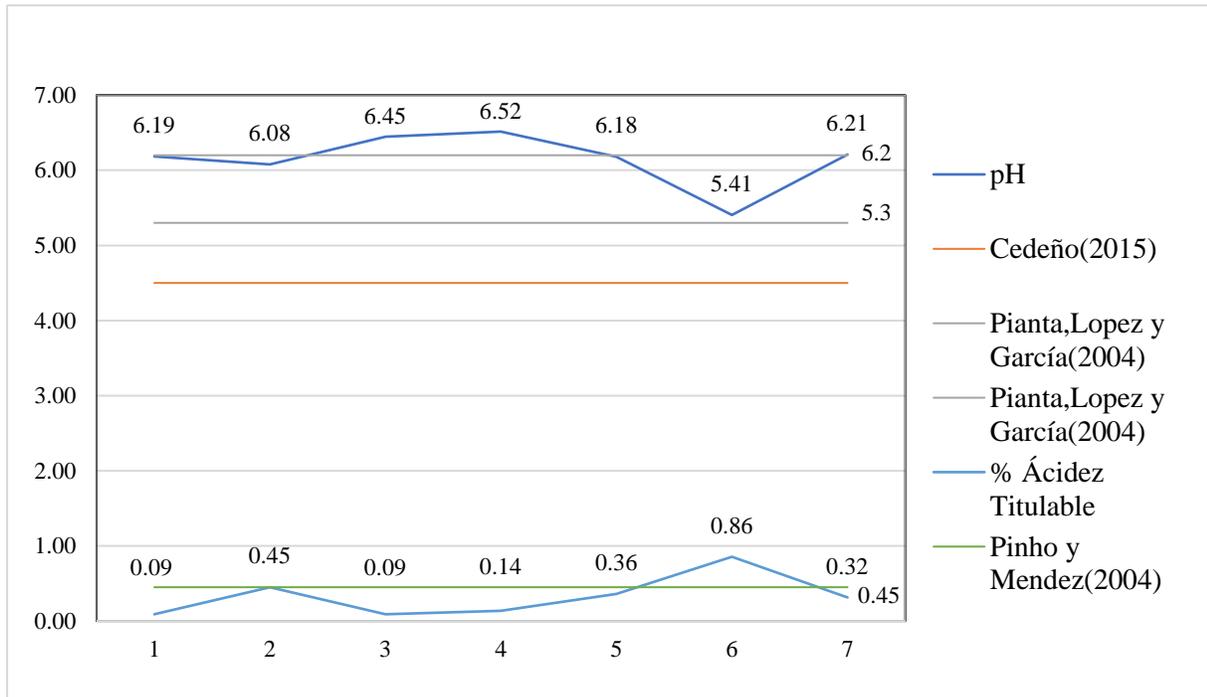


Figura 4. Promedio de pH y acides titulable (%) de queso fresco, Florida-Pomacochas

5.2. Evaluación de las características microbiológicas

5.2.1. Evaluación de las características microbiológicas por localidades

En la tabla 9 se puede apreciar que las tres localidades presentaron en promedio un recuento de mesófilos superiores a 10^5 UFC/g y *S. aureus* superiores a 10^3 UFC/g, presencia de enterobacterias y ausencia de *Salmonella sp* y *Shiguela*. Para coliformes totales se observa en la figura 5, que el valor promedio menor fue 695 NPM/g correspondiente a Florida-Pomacochas, más las dos localidades superaron los 800 NMP/g; y para coliformes fecales (Figura 6), el recuento promedio mínimo fue 194 NMP/g y también corresponde a Florida Pomacochas.

Tabla 9. Media y desviación estándar de recuento microbiano en queso fresco

Parámetro	Recuento			Valor de Referencia			
	Leymebamba	Molinopampa	Florida-Pomacochas	NTP 202.195		NTS N°071-MINSA/DIGESA-V.01	
				m	M	m	M
Mesófilos aerobios viables(UFC/g)	30 x10 ⁴	44 x 10 ⁴	25 x10 ⁴	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> (UFC/g)	81 x10 ³	14 x10 ⁴	11 x10 ⁴	10	10 ²	10	10 ²
Enterobacterias	Presencia	Presencia	Presencia	-	-	-	-
Coliformes Totales (NMP/g)	970	1100	695	10 ²	10 ³	5x10 ²	10 ³
Coliformes Fecales (NMP/g)	429	381	194	10	10 ²	-	-
<i>salmonellas sp</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	0	-	Ausencia/25g	-
<i>Shiguella sp</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	-	-	-	-

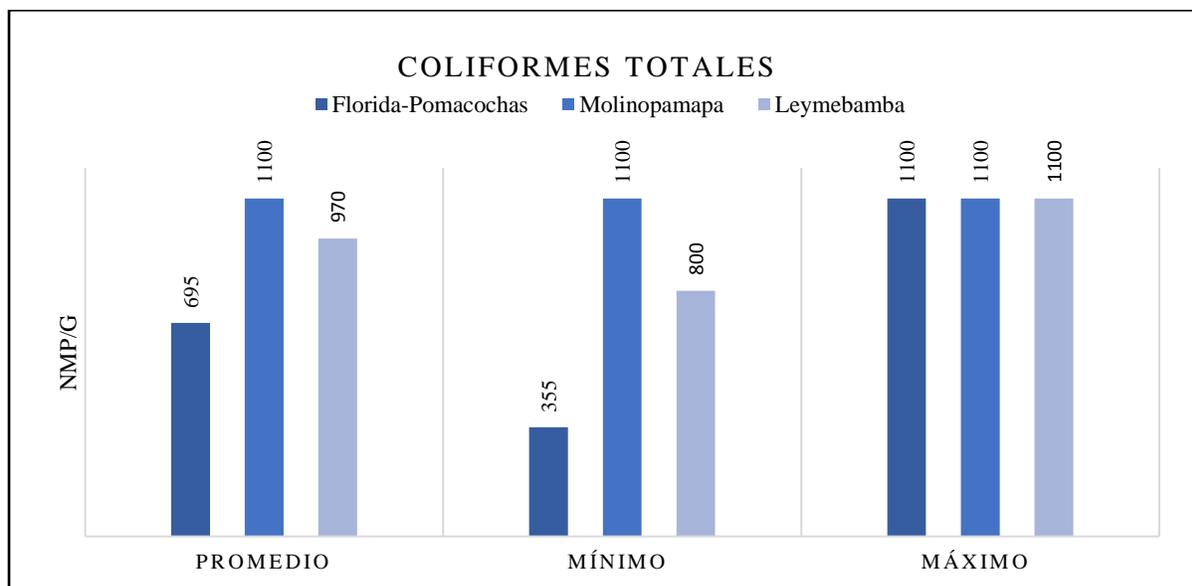


Figura 5. Numeración coliforme totales del queso fresco por localidad

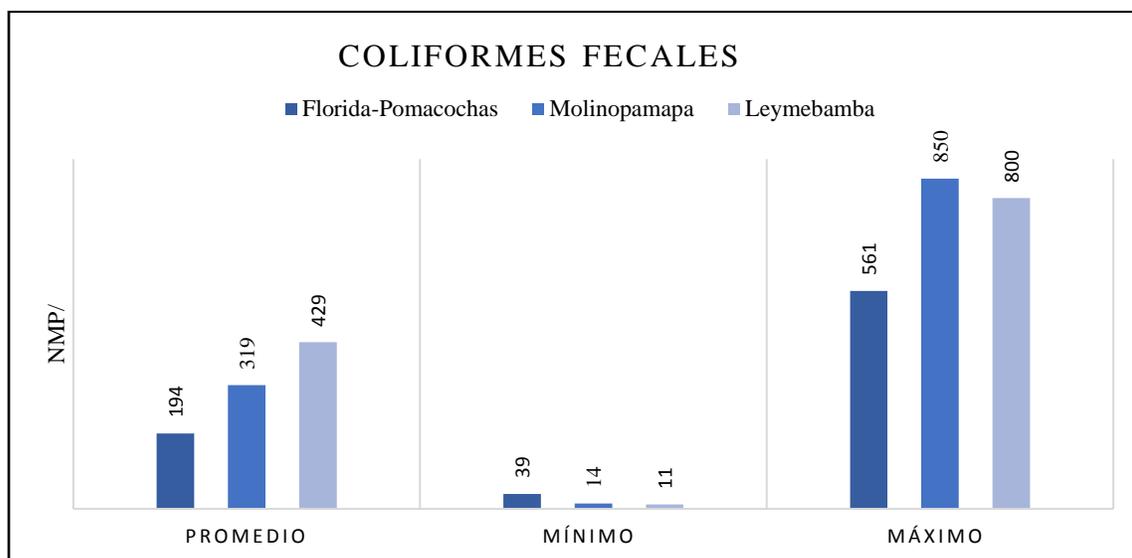


Figura 6. Numeración de coliformes fecales por localidad

En lo referente a la comparación de la carga microbiana presentes en los quesos frescos, se aprecia en el Anexo 15, el análisis de varianza para cada uno de los microorganismos estudiados. El recuento de mesófilos aerobios viables según el análisis de varianza indicó que las localidades no presentan diferencia significativa ya que el valor p es mayor a 0.05 a un nivel de confianza del 95%, en cambio para coliformes totales, el valor $p < 0.05$, lo que hace referencia a que existe diferencia significativa, se aprecia en la tabla 10 que el recuento mínimo es de 690 ± 78 y máximo es 1100 ± 102.57 .

Tabla 10. Media y desviación estándar de recuento microbiano en el queso fresco por localidades

Bacterias	Leymebamba	Molinopampa	Florida-Pomacochas
Mesófilos aerobios viables(UFC/g)	$30 \times 10^4 \text{ a} \pm 92 \times 10^3$	$44 \times 10^4 \text{ a} \pm 10 \times 10^4$	$25 \times 10^4 \text{ a} \pm 78 \times 10^3$
Coliformes Totales (NMP/g)	$97 \times 10^{\text{ab}} \pm 92$	$11 \times 10^2 \text{ a} \pm 103$	$69 \times 10^{\text{b}} \pm 78$
Coliformes Fecales (NMP/g)	$429^{\text{a}} \pm 119$	$381^{\text{a}} \pm 133$	$194^{\text{a}} \pm 101$
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	$81 \times 10^3 \text{ a} \pm 19 \times 10^3$	$14 \times 10^4 \text{ a} \pm 21 \times 10^3$	$11 \times 10^4 \text{ a} \pm 16 \times 10^3$

Asimismo, el análisis de varianza para coliformes fecales indicó que no existe diferencia, puesto que el valor p de la prueba F es mayor a 0.05, donde las muestras de la localidad de Florida-Pomacochas presentó un promedio de 194 ± 101 UFC/g, el que es el menor recuento por debajo de las muestras de Molinopampa que presentaron una media de 381 ± 133 UFC/g y Leymebamba con 429 ± 119 UFC/g. En cuanto a *Staphylococcus coagulasa* positivos no hay diferencias significativas pero el queso ofertado por Leymebamba presenta un recuento mayor a 10^3 UFC/g, en cambio las muestras de las localidades de Florida - Pomacochas y Molinopampa presentaron un promedio superior a 10^4 UFC/g.

5.2.2. Evaluación de las características microbiológicas por productores

En la tabla 11, se establece el recuento promedio para cada uno de los análisis microbiológicos.

Tabla 11. Media del análisis microbiológico de queso fresco por productores

Código	Mesófilos aerobios viables(UFC/g)	Coliformes Totales (NMP/g)	Coliformes Fecales (NMP/g)	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)
MF - P1	25×10^4 ab	655 ^a	325 ^a	75×10^3 cde
MF - P2	55×10^4 ab	800 ^a	87 ^a	21×10^4 ab
MF - P3	40×10^3 b	800 ^a	561 ^a	30×10^3 e
MF - P4	14×10^4 b	500 ^a	112 ^a	94×10^3 cde
MF - P5	69×10^3 b	355 ^a	111 ^a	10×10^4 cde
MF - P6	46×10^4 ab	655 ^a	39 ^a	24×10^4 a
MF - P7	23×10^4 ab	1100 ^a	125 ^a	28×10^3 e
MM- P1	46×10^4 ab	1100 ^a	210 ^a	13×10^4 bcd
MM- P2	35×10^4 ab	1100 ^a	200 ^a	15×10^4 abc
MM- P3	96×10^4 a	1100 ^a	1100 ^a	17×10^4 abc
MM- P4	28×10^4 b	1100 ^a	14 ^a	10×10^4 cde
ML - P1	24×10^4 ab	1050 ^a	11 ^a	80×10^3 cde
ML - P2	13×10^4 b	1100 ^a	800 ^a	32×10^3 de
ML - P3	25×10^4 ab	800 ^a	262 ^a	76×10^3 cde
ML - P4	74×10^4 ab	800 ^a	570 ^a	97×10^3 cde
ML - P5	12×10^4 b	1100 ^a	500 ^a	12×10^4 bcde

Valores medios, sin ninguna letra en común en la misma columna, presentan diferencias significativas a un nivel de confianza ($P < 0.05$).

En la localidad de Leymebamba los recuentos de bacterias aerobias mesófilas viables superaron 10^4 UFC/g, un 90% presenta recuento de *S. aureus* alrededor de 10^4 UFC/g sin embargo, una muestra presentó un recuento mayor a 10^5 UFC/g. Además, el 100% de muestras presenta presencia de entero bacterias y ausencia de *Salmonella* y *Shiguella*.

En la figura 7 se observa el recuento de coliformes totales son valores altos, superan los 800 NMP/g, y para los coliformes fecales se observa variabilidad con un recuento mínimo de 11 NMP/g y un máximo de 800 NMP/g.

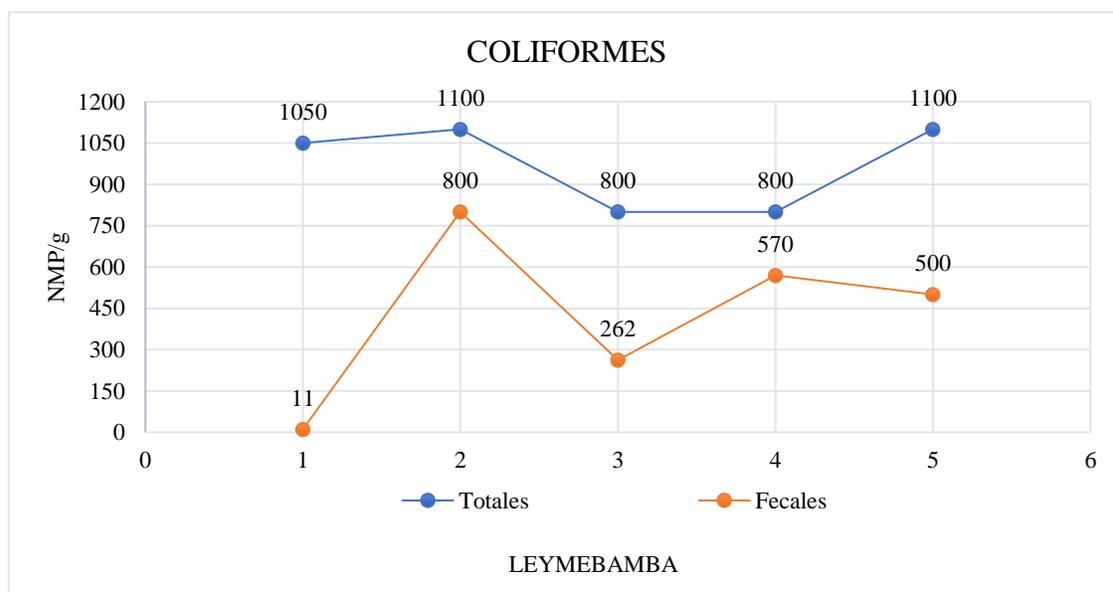


Figura 7. Numeración de coliformes totales y fecales (NMP/g) de queso fresco, Leymebamba

En la localidad de Molinopampa, los quesos frescos por lo general presentaron un recuento de *S. aureus* y bacterias aerobias mesófilas viables superiores a 10^5 UFC/g, solo en una muestra e observo un recuento alrededor de 10^2 UFC/g para mesófilos viables, en el 100% de las muestras hay presencia de entero bacterias y ausencia de *salmonella sp* y un recuento de 1100 NMP/g para coliformes totales. Sin embargo, hay diferencias en cuanto al recuento de coliformes fecales, se observa un recuento máximo de 850 NMP/g y un mínimo de 14 NMP/g.

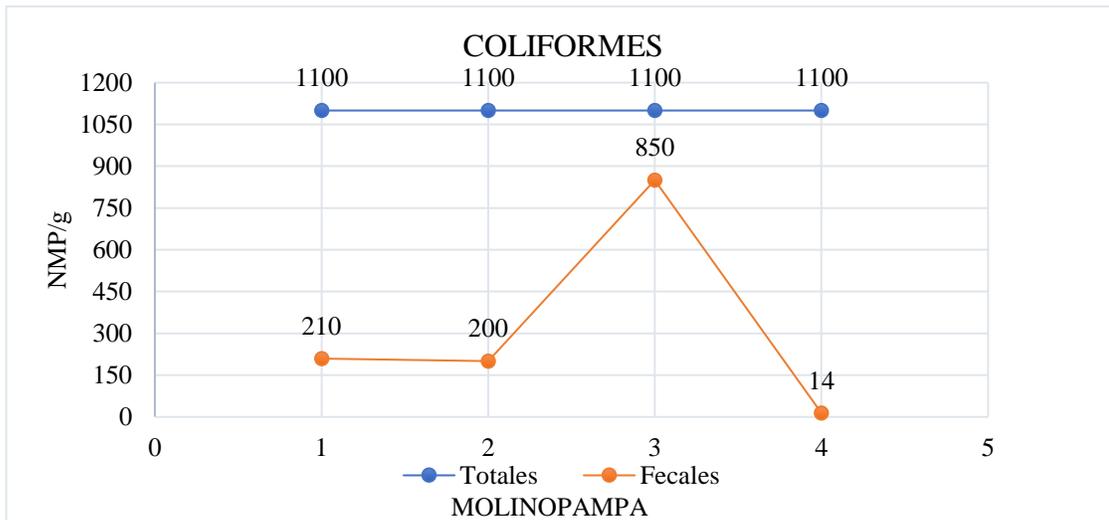


Figura 8. Numeración de coliformes totales y fecales (NMP/g) de queso fresco, Molinopampa. Las muestras de la localidad de Florida - Pomacochas presentaron un recuento elevado, mayores a 10^4 UFC/g para aerobios mesófilos viables y *S. aureus*, además se observó presencia de enterobacterias y ausencia de *Salmonella* y *Shigella* en el 100% de las muestras.

El recuento de coliformes es variable, el 28.57 % presenta un recuento inferior a 600 NMP/ml, el 42.86 % presentó un recuento entre 600 y 800 NMP/g, y el 14, 29 tuvo un recuento de 1100 NMP/g, como se muestra en la Figura 9.

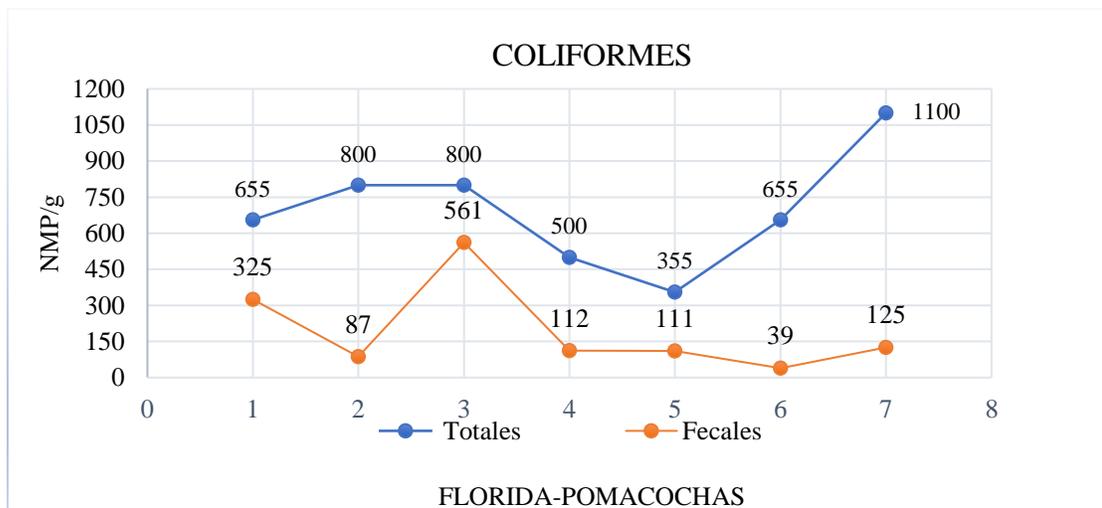


Figura 9. Numeración de coliformes totales y fecales (NMP/g) de queso fresco, Florida-Pomacochas.

Los recuentos de mesófilos aerobios viables fueron para el 18.75 % de las muestras inferiores a 10^4 UFC/g, y el 81.25 % superiores a 10^5 UFC/g, además el valor P es inferior a 0.05, indicando así que existe diferencias significativas

Con respecto a los resultados obtenidos de los recuentos de coliformes totales y fecales, se observan variaciones pero que estadísticamente no son significativos, pues el valor p de la prueba F es mayor a 0.05.

El análisis de varianza para la determinación de *S. aureus*, indica que existen diferencias significativas entre las muestras, el 50 % presentan un recuento inferior a 10^4 y el 50% restante presentan un recuento que superan 10^5 UFC/g de muestra. Así mismo es importante resaltar que el recuento mínimo de 3×10^4 lo presenta el productor 3 de la localidad Florida-Pomacochas y el máximo recuento alcanzado de 2.365×10^5 UFC/ml lo presenta el productor seis de la misma localidad.

VI. DISCUSION

6.1. Análisis fisicoquímico

La acidez, a un valor de 0.45% es un factor que afectan las características físicas del queso, influye en el sabor y en las variaciones que experimenta la red de proteínas, habiendo una correlación directa con los fenómenos de sinéresis y textura final (Cedeño, 2015), aunque la sinéresis también se ve afectado por la presencia de calcio libre, dado por las condiciones de proceso. En este estudio se encontró que, en acidez titulable, existe diferencias significativas entre todas las muestras, puesto que los resultados oscilan entre 0.09 % a 1.49%. La localidad de Florida - Pomacochas obtuvo un valor promedio mínimo de 0.33% de acidez, este valor guarda relación con lo encontrado por Cedeño (2015), quien, al investigar la calidad de queso fresco en diferentes lugares de procedencia y comercialización, reporto que el valor promedio en frigorífico es de 0.33%. Guzmán, Mayorga, & Mejía (2015) encontraron concentraciones aun mas bajas, al evaluar los parámetros físicos de queso fresco prensado semiduro encontraron en promedio un contenido de 19.53°D equivalente a 0.19% de ácido láctico, esto se explicaría por el bajo contenido de humedad encontrado, el que fue un promedio de 43.48%, sin embargo Huaraca (2013) al elaborar un queso fresco obtuvo un producto bajo contenido de acidez 18.61°D \pm 1.44°D y mas elevada humedad (57.71%) lo que indicaría que se debe a otras características de la elaboración. El queso fresco procedente de Molinopampa presenta un promedio de 0.74% y Leymebamba 0.89%, valores que se asemejan al queso Cotija (queso madurado) que a nivel artesanal se caracteriza por tener 0.7 % de acidez y 0.8% con proceso industrial (Flores, 2012). Cedeño (2015) también menciona que un promedio de acidez de 0.4, se encuentra fuera de los parámetros establecidos por la Norma mexicana, además el porcentaje de ácido láctico también se ve afectado por la época de producción, siendo mayor en temporada de lluvia que en temporada seca, por ejemplo González(2010) en queso fresco elaborado artesanalmente determino un promedio de 0.197% en temporada seca y un promedio de 0.480% en temporada de lluvias.

La concentración de iones hidrogeno (pH) guarda relación inversa con la acidez, a mayor pH menor contenido de acidez, además es un factor que condiciona el crecimiento de microorganismos, actividad enzimática y textura del queso. Para las bacterias un pH cercano a la neutralidad (6.50 a 7.50) es óptimo para su desarrollo (Montoya, 2008), mientras que las levaduras y hongos se desarrollan mejor en medios ácidos, entre 3.50 y 4.50 (Parès & Juárez, 1997). Se encontró que los valores de pH están en un rango de 5.35 a 6.52, existiendo diferencias significativas entre productores. El promedio de pH del queso ofertado por la localidad de Florida - Pomacochas es 6.15 frente a 5.72 y 5.68 de Leymebamba, y Molinopampa, respectivamente, estos valores confirman la relación inversa con el porcentaje de acidez titulable, es decir a mayor pH menor acidez. Cedeño (2015) reporta valores semejantes de 6.22 para quesos comercializados en tienda y Vásquez, et al., 2012 determinaron que los quesos frescos a nivel de 6 distribuidores presentaron un promedio mínimo de $5,50 \pm 0,24$ y máximo de $5,80 \pm 0,23$ de pH. El 12.50% de las 16 muestras de queso fresco evaluados, están por encima del rango establecido por las normas del ministerio de agricultura de Brasil que para queso colonial establece un mínimo de 5,30 y máximo de 6.20, cuyas composiciones, específicamente de humedad es semejante al de un queso fresco (Pianta, López, & García, 2004); sin embargo, Cedeño(2015) indica que según la norma mexicana (2010), el pH en queso fresco no debe ser mayor a 4.5. Por otro lado, de los valores de pH encontrados en las muestras de queso fresco se infiere que, los quesos estudiados representan un sustrato potencial para a proliferación de bacterias.

El queso es fresco si contiene una humedad mayor o igual a 46 % según la NTP.202.195 (2004) y se clasifican como queso blando (humedad de 46 a 55%) y/o muy blando con un contenido de humedad mayor igual a 45%, de acuerdo a la NTP.202.193 (2010). En el presente estudio se determinó que solo el 69% cumple con el requisito, donde el 38% son quesos blandos y el 31 % muy blandos, mientras el 31% tiene un porcentaje de humedad menor a lo establecido que le clasifica como quesos semiduros. A diferencia de Molinopampa, en Florida – Pomacochas solo el 85.71% se clasifica como quesos frescos y el 14.29% cómo queso semiduro. En Leymebamba los quesos son de pasta homogénea y cremosa donde solo el 20% de las muestras se clasifica como quesos frescos y blandos,

mientras que el 80% presenta valores entre 36 y 46% y se clasifican como quesos semiduros, estos resultados guardan relación directa con el contenido de grasa que da consistencia, aromas y sabores diferentes a un queso fresco tradicional, del mismo modo Vásquez, et al., 2012, reportaron un contenido mínimo de 36.99% y máximo de 46.37% en quesos blancos estudiados a nivel de distribuidores.

En cuanto al contenido de grasa del queso fresco ofertado de cada localidad existe diferencia significativa. En Molinopampa se observó un porcentaje de grasa mínimo de 23.75% y máximo de 28.94%, en Florida-Pomacochas el porcentaje de grasa osciló de 25 a 30%, sin embargo, en queso fresco ofertado en Leymebamba presenta un contenido promedio de 32.69%, siendo 37.29% el máximo. Los posibles factores que determinarían estas variaciones la materia prima utilizada, las técnicas o prácticas de manufactura y el tiempo de almacenamiento, que da lugar al metabolismo de enzimas causando la lipólisis la grasa atrapada en la pasta del queso a ácidos grasos libres cambiando la textura además de aromas, sabores en el queso o factores como época del año, etc. Estos resultados superan los valores de 20.1g/100 g para un queso fresco y 30g/100 para un queso mantecoso, establecidos por el instituto nacional de salud (CENAN, 2009). Al respecto Cedeño (2015), encontró en queso fresco comercializado en tienda, un contenido inferior a lo reportado en el presente, es decir un contenido graso alrededor de 18%, en mercado un promedio máximo de 21,34% y en frigorífico un promedio de 22.34%. Sin embargo, Saca (2011) y Ballesta (2014) encontraron un contenido de grasa por lo general mayores a 40 %, lo que se asemeja a lo encontrado en la localidad de Leymebamba, pues se determinó un valor máximo de 37.29 %.

Las muestras de queso fresco cuentan con un contenido de grasa en extracto seco mayor o igual a 40%. Este resultado coincide con el requisito para el queso fresco elaborado a base de leche entera establecido por la norma NTP 202.195, del cual se tiene que el 37% de quesos frescos estudiados son extra grasos y el 38% son grasos y 25% corresponde a otros tipos de quesos.

El queso fresco debe contener 17.50g de proteína en 100g según el Centro Nacional de Alimentación y Nutrición (CENAN, 2009). El contenido de proteína no solo depende de la

calidad de materia prima, sino también de las condiciones y parámetros de elaboración. Solo dos localidades tienen un contenido de proteína mayor a este valor. Se determinó además que existe diferencias significativas con el queso fresco elaborado en Leymebamba, ya que el contenido de proteína promedio es 24.94 % mayor a 16.93 y 17.36 % que corresponden a Molinopampa y Florida Pomacochas respectivamente. Promedios similares lo reporta Ballesta (2014) encontró un porcentaje de 20.94% de proteína, como valor promedio máximo en queso elaborado con cuajo animal y cultivos lácticos.

6.2. Análisis microbiológico

El crecimiento microbiano está condicionado por factores internos o propios del alimento tales como: el pH, la actividad de agua, disponibilidad de nutrientes y factores externos como temperatura, humedad del medio de almacenamiento y otros. En cuanto al recuento de bacterias aerobias mesófilos viables, el análisis de varianza mostró que no hay diferencias significativas; los productos lácteos ofertados en las localidades de estudio presentaron en promedio un valor superior a 10^4 UFC/g y considerando que el expendio de las muestras en su mayoría fueron a temperaturas de refrigeración, indican alteración por deficientes prácticas de manufactura, sin embargo, cabe mencionar el rango de temperatura mínima de desarrollo para mesófilos es de 5 a 10°C. Vásquez, et al., (2012), a nivel de distribuidores en queso blanco, determinaron un recuento mínimo de 28×10^5 y máximo de 302×10^5 UFC/g, resultados que no cumplen con los parámetros establecidos por la norma venezolana COVENIN 3338-97, indicando alteración que pudieran poner en riesgo la salud del consumidor.

La estimación de la densidad microbiana para coliformes presente en las muestras es significativamente diferente en las localidades, en el que los quesos de la Florida-Pomacochas y Leymebamba, presentaron promedios menores de 695 y 970 NMP/g, mientras que Molinopampa presentó 1100NMP/g, este último es el recuento más alto para coliformes totales, al respecto Guzmán, Mayorga & Mejía (2015) encontraron también recuentos > 1100 , sin embargo, ninguno cumple con el rango establecido de 10^2 - 10^3 NMP/g establecido por NTP 202.195. Asimismo, la contaminación fecal es menor en el producto ofertado por Florida-Pomacochas con 194 NMP/g, luego se ubica Molinopampa con

381NMP/g, recuento semejante a lo encontrado en Leymebamba con 429NMP/g. Estos valores de coliformes resistentes a 45°C superan el límite mínimo de 10^2 NMP/g establecido en la norma antes mencionada y también lo indicado por normas internacionales como la norma venezolana COVENIN 3821:2003, que establece como límite de 21 a 210 NMP/g para queso blanco elaborado con leche pasteurizada (FONDORMA, 2003), de igual manera Barrientos (2015), quien al evaluar en queso fresco comercializado en la provincia del Callao, la carga de *E.coli*, determinó que el 45% presentaron recuentos muy altos, del que un 14% corresponde a recuentos en un rango de 101 -1000 NMP/g, el 14% de 1001-1100 NMP/g y el 17% recuentos > 1100. Los resultados indican deficientes prácticas de manufactura, el cual incluye deficiente tratamiento térmico, o a las inadecuadas condiciones higiénicas durante la fabricación, que al tener condiciones favorables de crecimiento pueden proliferar en el medio y originar defectos de flavor en el queso debido al metabolismo de lactosa y las síntesis de metabolitos entre ellos CO₂, H₂, y en menor cantidad ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico, etc (Walstra et al, 2001).

En las localidades y, por ende, en todas las muestras evaluadas se determinó ausencia de *Salmonella* y *Shigella* en 25 g de muestra, del mismo modo Barrios(2006) reporta la ausencia de este patógeno al realizar análisis en la elaboración del queso. Cirisola y Gago (2012) al evaluar la calidad higiénico sanitaria de quesos artesanales en 10 establecimientos, reportó también la ausencia de *Salmonella*. Estos resultados concuerdan con los parámetros establecidos por la NTP 202.195 y NTS N°071-DIGESA que establecen ausencia en 25g.

El recuento de *S. aureus* en promedio de las tres localidades superan un recuento de 10^3 UFC/g, siendo 10^2 - 10^3 UFC/g el límite establecido por la norma técnica peruana 202.195 y los criterios microbiológicos dados por la NTS N°071- DIGESA, indicando así deficientes prácticas de manufactura. Sin embargo, se observó que las muestras de la localidad Leymebamba presentaron un recuento menor de 81×10^3 UFC/g comparado a las muestras de Molinopampa y Florida-Pomacochas que presentaron un recuento similar de 14×10^4 y 11×10^4 UFC/g respectivamente. Esta diferencia tiene relación con el pH encontrado, puesto que el promedio más alcalino corresponde a Florida-Pomacochas con 6.15 y presentó una mayor carga microbiana alrededor de 10^4 , mientras que Leymebamba presentó un promedio de 5.72, al que le corresponde el menor recuento alrededor de 10^3 UFC/g. El 50% de las

muestras presentaron un recuento superior a 10^5 UFC/g e indican peligro para el consumidor, ya que con un recuento de 10^5 UFC/g estas bacterias logran sintetizar una dosis menor a $1 \mu\text{g/Kg}$ de toxina, cantidad suficiente para producir síntomas de intoxicación (Forcythe, 2003). Por lo general diversos investigadores al evaluar la calidad de queso reportaron que superan los límites microbiológicos, Vásquez, et al.,(2012) reporta en queso blanco un recuento máximo de 119×10^2 UFC/g y Ballesta (2014) encontro que al elaborar queso costeño con diferentes tipos de cuajo, el recuento de *staphylococcus* es superior a 10^2 . También se encontraron recuentos muy elevados de 75×10^6 en queso que se oferta en el mercado (Cedeño, 2015).

VII. CONCLUSIONES

- Los resultados de acidez titulable oscilaron entre 0.09 % a 1.49%, el pH entre 5.35 y 6.52. El 69% de los quesos evaluados cumple con los requisitos para humedad (el 38% son quesos blandos y el 31 % muy blandos) y proteína. Todas las muestras cumplen con el parámetro de contenido graso en extracto seco establecido en la NTP.202.195 (2004), el 46% son quesos extra grasos y el 54% son grasos, clasificación según NTP.202.193 (2010).

En Florida-Pomacochas, se observó que el queso fresco presentó 0.33% de acidez titulable, que corresponde al valor promedio mínimo, asimismo presenta el pH más alcalino 6.15, del mismo modo el 86% de quesos cumple con las especificaciones de contenido de humedad para queso fresco dado por la NTP .202.195 (72% son quesos muy blandos, el 14 % son quesos blandos), a excepción del 14 % son quesos semiduros; además según el análisis de grasa el 57% de muestras de queso de los productores de Florida-Pomacochas se clasifica como quesos extra grasos, el 14% como grasos y el 29% corresponde a otro tipo de quesos.

En Molinopampa, los quesos frescos presentan un promedio de acidez 0.74 % y 5.68 de pH, además todas las muestras cumplen con lo establecido en cuanto a la humedad y se clasifican como quesos blandos, encontramos quesos grasos (75%) y un 25% que corresponde a otros tipos de queso.

En Leymebamba, el queso fresco presenta un promedio de acidez 0.89 % y 5.72 de pH, solo el 20% cumple con los requisitos de humedad y son quesos blandos, asimismo el 40% de quesos son extra graso, un 40% son grasos y el 20 % restante otros tipos.

- Los resultados obtenidos de carga microbiana evidencian que la calidad higiénico sanitario de los quesos fresco elaborado en las localidades presentan condiciones inadecuadas y no cumplen con las normas y regulaciones sanitarias vigentes, así el 18.75 % tienen un recuento inferior a 10^4 y el 81.25 % presentan un recuento superior a 10^5 UFC/g de bacterias mesófilas viables, lo que indica el uso de materias primas contaminadas, condiciones inadecuadas de procesamiento y conservación. El 100% presenta enterobacterias. Para coliformes totales se encontró 1100 NMP/g como máximo y 335 NMP/g como mínimo, para coliformes fecales se encontró un mínimo de 11 y máximo de 1100 NMP/g. Asimismo, ausencia de *Salmonella*

sp y *Shiguella*. El recuento de *S.aureus*, en todas las muestras de quesos frescos superan 10^3 UFC/g, de este el 50% superan 10^5 UFC/g, recuento que indica un peligro para el consumidor, por la posible presencia de enterotoxinas.

Asimismo, del análisis microbiológico se concluye que el queso fresco procedente de Florida - Pomacochas reúne mejores condiciones microbiológicas, presenta una densidad microbiana mínima de coliformes totales (690 ± 78 NMP/g) y fecales (194 ± 101 NPM/g) en comparación a las localidades de Leymebamba y Molinopampa, el 42.9 % superan un recuento de 10^5 UFC/g de *staphylococcus*

En Molinopampa, las muestras presentan un recuento de 1100 NMP/g, sin embargo, hay diferencias en cuanto al recuento de coliformes fecales, se observa un recuento máximo de 850 NMP/g y un mínimo de 14 NMP/g, todas las muestra superan un recuento de 10^5 UFC/g de *S.aureus*.

En Leymebamba, los recuentos de bacterias aerobias mesófilas viables superaron 10^4 UFC/g, y para *S. aureus* el 20% supera un recuento de 10^5 UFC/g.

VIII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda la estandarización de procesos para generar productos homogéneos, es decir de iguales características en el tiempo.
- Se recomienda, en base a estos resultados obtenidos, que los productores de queso apliquen las Buenas prácticas de Manufactura (BPM) para mejorar la calidad sanitaria de los quesos elaborados y ofertados en las tres localidades.
- Se recomienda mantener la temperatura adecuada de almacenamiento, de 2 a 8°C, establecida por la NTP 202.195 hasta la venta y posterior consumo del producto, así reducir la probabilidad de variaciones en la composición y la pérdida de calidad microbiológica del producto posterior a su elaboración.
- Se sugiere realizar nuevas investigaciones a nivel tecnológico para mejorar las características microbiológicas y organolépticas del queso fresco, como el uso de aditivos como especias o aprovechar la función antimicrobiana de productos como la miel de abeja.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Kousta, M., Mataragas, M., Skandamis, P., & Drosinos, E. (2010). Prevalencia y fuentes de contaminación del queso con patógenos en la granja. *Food Control*, 805-815.
- Adamas, M. R., & Moss, M. O. (1995). *Microbiología de los alimentos*. (M. Ramis Vergés, Trad.) España, España: ACRIBIA,S.A. Recuperado el 24 de Abril de 2017
- Alais, C. (1998). *CIENCIA DE LA LECHE.Principios de tecnica lechera* . Compañía editorial continental,S.A.De CV.MEXICO.
- Andre´, M., Campos, M. H., Borges, L. J., Kipnis, A., Pimenta, F., & Serafini, Á. B. (2008). Comparación de los aislados de *Staphylococcus aureus* de manipuladores de alimentos. *Food Control*, 200 - 207.
- Ballesta Rodriguez, I. (2 de Mayo de 2014). Evaluacion de la calidad del queso costeño elaborado con diferentes tipos de cuajo (animal,microbiano) y la adiccion o no de cultivos lacticos (*Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* y *Lactococcus lactis* subps. *cremoris*). Cartagena, Colombia.
- Barrientos Aguilar, E. E. (31 de Marzo de 2015). Calidad higiénico - sanitaria del queso fresco comercializado en la provincia del Callao-durante el periodo otoño e invierno del 2014. Callao, Callao, Lima. Obtenido de <http://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/UNAC/999/206.pdf?sequence=1>
- Barrios Centeno , H. X. (Octubre de 2006). Evaluación y mejoramiento de la calidad microbiológica de queso fresco a base de leche no pasteurizada, elaborado artesanalmente y comercializado en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Cedeño Tapia, M. A. (2015). Calidad del queso fresco en diferentes lugares de procedencia y lugares de comercialización en Quevedo. Quevedo, Los Rios , Ecuador.

- CENAN. (2009). Tablas peruanas de composición de alimentos. Lima, Perú, Perú: INSTITUTO NACIONAL DE SALUD.
- Cervantes - García, E., García Gonzáles, R., & Salazar Schettino, P. M. (2014). Características generales del staphylococcus aureus. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 28- 40. Obtenido de <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
- Cirisola Barneche, M., & Gago, V. M. (2012). Evaluacion de la calidad higiénico-sanitaria de quesos artesanales de pasta dura evaluados en la zona de colonia, Uruguay. Montevideo, Uruguay.
- CODEX ESTAN 234-1999. (s.f.). Métodos de análisis y de muestreo recomendados.
- Delgado, R. C., & Torres, D. M. (2003). Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* spp. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health*, 158-164.
- Días Lezema, D. (2010). Comportamiento y evaluación de las proteínas de la leche(caseína y del lactosuero) frente al tratamiento térmico y pH. Lima, Perú.
- DIGESA. (Viernes de Agosto de 2008). NTS. N°071- MINSA/DIGESA-V 01. Lima, Perú.
- Direccion General De Salud Ambiental.DIGESA. (2001). Manual de análisis microbiológico de alimentos. Lima, Peru.
- Drake, M. A., & Delahunty, C. M. (2017). Características sensorial del queso y su evaluación. *ACADEMIC PRESS*, 517-545.
- Elika.Fundacion Vasca Para La Seguridad Agroalimentaria. (28 de Febrero de 2013). *Staphylococcus Aureus. Staphylococcus Aureus*. Obtenido de http://www.elika.eus/datos/pdfs_agrupados/Documento95/7.Staphylococcus.pdf
- FAO. (2008). Ingenieria de Alimentos,calidad y competitividad en sistemas de la pequeña industria alimentaria. Roma.

- FAO. (s.f.). Produccion y productos lácteos. Obtenido de http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/produccion-lechera/es/#.WQbvM_nhDIW
- FAO y FEPALE. (2012). Situacion de la lechería en América Latina y el Caribe. Chile. Obtenido de http://www.fao.org/fileadmin/templates/est/COMM_MARKETS_MONITORING/Dairy/Documents/Paper_Lechería_AmLatina_2011.pdf
- Flores Magallón, R. (12 de Noviembre de 2012). Caracterización de la microbiota asociada al queso cotija. *Caracterización de la microbiota asociada al queso cotija*. Reynosa, Tamaulipas, Mexico.
- FONDORMA. (2003). Norma Venezolana COVENIN 2821:2003. Venezuela. Obtenido de <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/3821-2003.pdf>
- Forcythe, S. J. (2003). *Alimentos seguros:Microbiologia* (Primera ed.). Zaragoza: ACRIBIA,S.A.
- Gamiño Arroyo, A. E., Barrios Ceballos, M. P., Cárdenas de La Peña, L. P., Anya Velázquez, F., & Padilla Vaca, F. (11 de Julio de 2005). Flora Normal,Probioticos y salud humano. *Flora Normal,Probioticos y salud humano*. Guanajuato, Mexico. Obtenido de <http://www.acuedi.org/ddata/1357.pdf>
- Garcia Islas, B. (Mayo de 2006). Caracterizacion físico-química de diversos tipos de quesos elaborados en el valle de Tulacingo HGO con el fin de proponer normas de calidad. Tulacingo De Bravo,HGO, Mexico, Mexico.
- Gonzáles Ramírez, E. (Octubre de 2010). Carcterización de la composición físico química del queso fresco elaborado artesanalmente en Sehaulca,municipio de Minatitlán,Veracruz. 10-13. Veracruz, México. Recuperado el 14 de Abril de 2017
- Guarner , F. (2007). Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. *Nutricion Hospitalaria*, 14-19. Obtenido de <http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v22s2/fisiologia2.pdf>

- Guzmán Estremadoyro, L. J., Mayorga Sánchez, N. A., & Mejía Munive, C. F. (2015). Evaluación de parámetros físicos, químicos y microbiológicos del queso fresco prensado producido en la región Junín, Perú. *Apuntes de ciencia & sociedad*, 280-286.
- Hernández Mateos, R. (2013). Caracterización fisicoquímica de un producto tipo cajeta elaborado a partir del suero dulce de quesería.
- HIMEDIA. (Febrero de 2015). Mannitol Salt Agar.
- Huaraca Aparco, R. (2013). Evaluación del rendimiento, características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas del queso fresco elaborado con leche con y sin adición del activador del sistema peroxidasa (LP). Andahuylas, Perú.
- INEI. (2012). *IV CENAGRO 2012*. Obtenido de <http://censos.inei.gob.pe/cenagro/tabulados/>
- Instituto Nacional de Salud. (2011). Identificación de riesgos biológicos asociados al consumo de leche cruda bovina en Colombia. Bogotá, Colombia. Obtenido de <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/Er-peligros-biologicos-en-leche.pdf>
- Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis. INPPAZ. (2002). Sistema de Información Regional para la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Obtenido de <http://www.panalimentos.org/sirveta/e/salida2.asp>
- Luigi, T., Rojas, L., & Valbuena, O. (2013). Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda y pasteurizada expendida en el estado Carabobo, Venezuela. *Salus*, 25-33. Obtenido de <http://www.riuc.bc.uc.edu.ve/bitstream/123456789/1275/1/art05.pdf>
- Manzo, G. Z., Flores, H. A., & Padilla, M. Z. (2014). Microbiología General de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Biomed*, 129-143. Obtenido de <http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf>
- Marie Guégan, F. B. (2004). *Queserías rurales de Cajamarca*. Lima: Hernando Ribero S. Obtenido de <https://books.google.com.pe/books?id=nFgXgQ2MJgcC&pg=PA59&dq=el+queso+m>

antecoso&hl=en&sa=X&ved=0ahUKEwi7gP2dmbHUAhVF7yYKHbHBAsUQ6wEIJzAA#v=onepage&q&f=true

MINAGRI. (2014). Valor bruto de la producción agropecuaria-VBP. Obtenido de <http://minagri.gob.pe/portal/download/pdf/herramientas/boletines/boletineselectronicos/VBP/2014/VBP-enero-2014-120314.pdf>

Monsalve, J., & Gonzáles, D. (2005). Elaboración de un queso tipo ricotta a partir de suero lácteo y leche fluida. *FCV-LUZ*, 543-550. Obtenido de <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/28378/2/art8.pdf>

Montoya Villafañe, H. H. (2008). *Microbiología básica para el área de salud y afines*. Antioquia: Universidad de Antioquia. Obtenido de <https://books.google.com.pe/books?id=5RjS6B0X5RgC&pg=PA66&dq=parametros+de+crecimiento+de+bacterias&hl=en&sa=X&ved=0ahUKEwjOpr-p6rHUAhXJOyYKHRSBCfwQ6wEIKjAA#v=onepage&q=parametros%20de%20crecimiento%20de%20bacterias&f=false>

Motta Delgado, P. A., Rivera M, M. S., Duque T, J. A., & Guevara, F. A. (2014). Factores inherentes a la calidad de la leche en la agroindustria alimentaria. *Rev.Colombiana cienc.Anim.*, 223-242.

Muñoz, C. C. (26 de Junio de 2007). Calidad de agua.Coliformes totales. Guayaquil, Ecuador. Obtenido de <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/6154/9/c1.pdf>

Murphy, S. (s.f). Puntos de vista en evolución:Agricultura a pequeña escala,mercados y globalización. La Paz, Bolivia. Obtenido de http://www.rimisp.org/wp-content/files_mf/1377793653agriculturaapequenaescalamercadosglobalizacion.pdf

Novoa, C., & Lopez, N. (2008). Evaluación de la vida útil sensorial del queso doble crema con dos niveles de grasa. *Medicina veterinaria y zootecnia*(55), 91-99. Recuperado el 14 de Abril de 2017, de <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/remezvez/article/view/10435/14244>

- OCDE y FAO. (2016). Perspectivas agrícolas OCDE-FAO 2016-2015. *Perspectivas agrícolas OCDE-FAO 2016-2015*. Recuperado el 1 de Mayo de 2017, de <http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9fdf5311-es.pdf?expires=1493643475&id=id&accname=guest&checksum=2ABB31B01A05DD3CD09D88DEC8A5A1FB>
- Osorio Londoño, M., Rodríguez, A., & Ramírez Navas, J. S. (2010). El Quesillo: Un queso colombiano de pasta hilada. Colombia, Colombia.
- Otto, M. (2014). Staphylococcus aureus toxins. *Current Opinion in Microbiology*, 32-37.
- Parès I Farràs, R., & Juárez Giménez, A. (1997). *Bioquímica de los microorganismos*. España: Reverte, S.A.
- Parra, M., Durango, J., & Máttar, S. (2002). Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por salmonella. *MVZ - Córdoba*, 187-200. Obtenido de <http://www.redalyc.org/pdf/693/69370201.pdf>
- Pascual Anderson, M. d., Calderon, V., & Pascual. (1999). *Microbiología alimentaria: Metodología analítica para alimentos y bebidas*. Madrid, España: Días de Santos, S.A. Obtenido de https://books.google.com.pe/books?id=9EIfkks8uxMC&pg=PA17&dq=coliformes&hl=es&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
- Pianta, C., López Diaz, T. M., & García Fernández, M. C. (2004). Composición Fisico - química del queso colonial(Brazil). *Anales de veterinaria de Murcia*, 113-122.
- Prieto, M., Mouwen, J. M., López Puente, S., & Cerdeño Sánchez, A. (Abril de 2008). Concepto de calidad en la industria agroalimentaria. *Interciencia*, 258-264.
- Puerta García, A., & Mateos Rodríguez, F. (2010). Enterobacterias. *Medicine*, 3426-3431. Obtenido de http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias_Medicine2010.pdf

- Ramirez Lopez, C., & Vélez Ruiz, J. (2012). Quesos frescos:Métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 131- 148.
- Reginald, Bennett, & Lancette, G. A. (January de 2001). *U.S.FOOD & DRUG ADMINISTRATION*. Obtenido de <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071429.htm>
- Reséndiz M, R., Hernández Z, J. S., Ramírez H, R., & Pérez A, R. (2012). El queso fresco artesanal de la canasta básica y su calidad sanitaria en Tuzupán, México. *Actas Iberiamericanas de Conservación Animal*, 235-255.
- Roman , M. M. (2016). Frecuencia de enterobacterias, carne molida y fresa en el mercado mayorista "La Parada". Lima, Perú.
- Romero del Catillo Shelly, R., & Mestres Lagarriga, J. (2004). *Productos Lácteos:Tecnología*. Catalunya : Universidad Politécnica de Catalunya.
- Rosario Soles , L. O., & Turpo Yudichi, L. E. (Marzo de 2014). Características bromatológicas del queso fresco comercializado en los mercados del distrito de Trujillo, Marzo-Abril del 2014. Trujillo, Lima.
- Saca Aguilar , L. V. (Julio de 2011). Evaluación bromatológica y organoléptica de quesos frescos de leche cruda procedentes de Yangana, Gonzanama, Saraguro, Zalapa y Chuquiribambaba. Loja, Ecuador.
- Smith, J. (2004). *Biotecnología*. España: Acribia,S.A. Recuperado el 11 de Abril de 2017
- Tarigo, J. B. (19 de Diciembre de 2012). Evaluación higiénico-sanitaria de quesos artesanales producidos en la zona litoral oeste, Uruguay. Montevideo, Uruguay. Obtenido de <https://www.colibri.udelar.edu.uy/bitstream/123456789/2712/1/FV-29948.pdf>
- Terragno, R., Caffer, M., & Binsztein, N. (2007). Manual de procedimientos. Diagnóstico y caracterización de shiguela spp. *Manual de procedimientos. Diagnóstico y caracterización de shiguela spp.* Obtenido de http://bvs.panalimentos.org/local/File/Manual_Shigella_procedimientos.pdf

- Thierry , A., Collins, Y., Abeijón Mukdsi, M. C., McSweeney, P. L., Wilkinson, M. G., & Spinnler, H. E. (2017). Lipólisis y Metabolismo de los Ácidos Grasos en el Queso. *ACADEMIC PRESS*, 423- 444. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00017-X>
- Vásquez, N., Duran, L., Sánchez, C., & Acevedo, I. (2012). Evaluacion de las características fisicoquimicas y microbiologicas del queso blancoa nivel de distribuidores,estado Lara,Venezuela. *Zootecnia Tropical*, 217-223.
- Walstra, P., Geurts, T. J., Noomen, A., Jellema, A., & Van Boekel, M. A. (2001). *Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos*. Zaragoza, España: ACRIBIA S.A.

ANEXOS

ANEXOS 1

Materiales

Equipos:

- Extractor soxhlet
- Balanza analítica sensible 0.1 mg
- Estufa
- Calorimeter assy 240V 6200
- Equipo Kjeldahl
- Equipo de titulación

Instrumentos:

- Potenciómetro digital
- Equipo de titulación
- Pipeta de 10 ml

Reactivos:

- Solución alcohólica de fenolftaleína (0.1%)
- Solución de NaOH al 0.1N
- Éter de petróleo P.E. 40-60°C
- Ácido sulfúrico concentrado H₂SO₄
- Peróxido de hidrógeno (H₂O₂ 30 % v/v) p.a.
- Catalizador (sulfato de potasio 15g + sulfato de cobre 0.45g) (tabletas o en polvo).
- Indicador mixto N° 5 o 4.8, para valoraciones de amoniac.
- Solución de ácido bórico al 4% m/v.
- Solución NaOH al 40 % m/v.
- Solución de ácido clorhídrico, aprox. 0.250 N
- Solución de Na₂CO₃

Medios de cultivo:

- Agar Mac Conkey
- Agar SS (*Salmonella – Shiguella*)
- Caldo Brila
- Caldo peptonado
- Agar plate count agar - PCA
- Agar triple azúcar hierro - TSI
- Agar lisina hierro - LIA
- Agar citrato de simmons

Otros Materiales

- Agua destilada
- Papel filtro whatman
- Crisoles
- Placas Petri mediana, con tapa, sin divisores
- Espátula
- Vaso de precipitación
- Vasos de aluminio
- Pinza para manipulación de vasos
- Mortero
- Cuchillos
- Tabla de picar
- Pizeta
- Asa bacteriológica
- Tubos de ensayo de 16mm x 150mm
- Campana Durham
- Pipeta :1ml, 2ml, 25ml
- Mechero de alcohol
- Gradilla
- Alcohol
- Algodón
- Papel Kraft

ANEXOS 2

Secuencia fotográfica de la realización de encuestas y muestreo en los distritos de Leymebamba, Molinopamapa, y La Florida-Pomacochas



Fotografía 1. Encuestas realizadas en las localidades



Fotografía 2. Toma de muestra y traslado a laboratorio

ANEXO 3

Secuencia fotográfica análisis fisicoquímicos de queso fresco



Fotografía 3. Medición de pH de las muestras de queso fresco



Fotografía 4. Determinación de acidez titulable por el método volumétrico

ANEXO 4

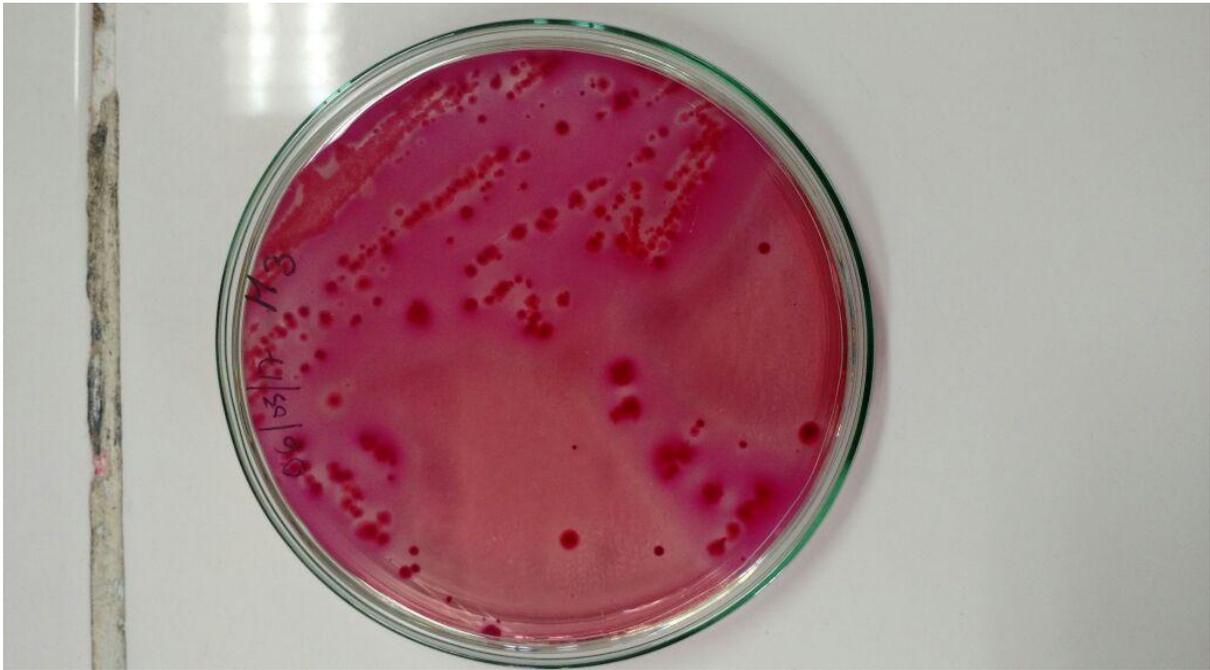
Secuencia fotográfica de los análisis microbiológicos



Fotografía 5. Extracción de la muestra para el análisis microbiológico



Fotografía 6. Recuento de bacterias aerobias mesófilos viables



Fotografía 7. Recuento de bacterias aerobias mesófilos viables



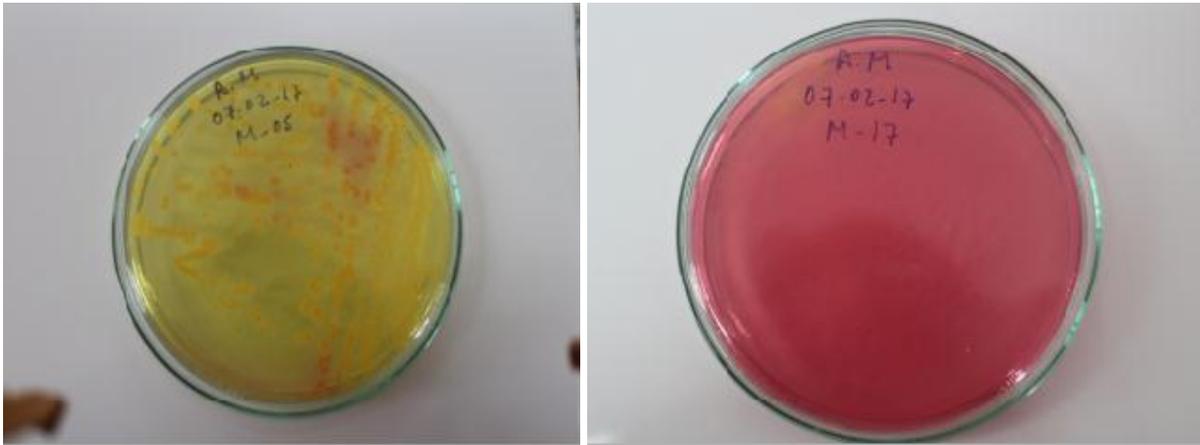
Fotografía 8. Estimación del NMP/g de coliformes Totales y Fecales



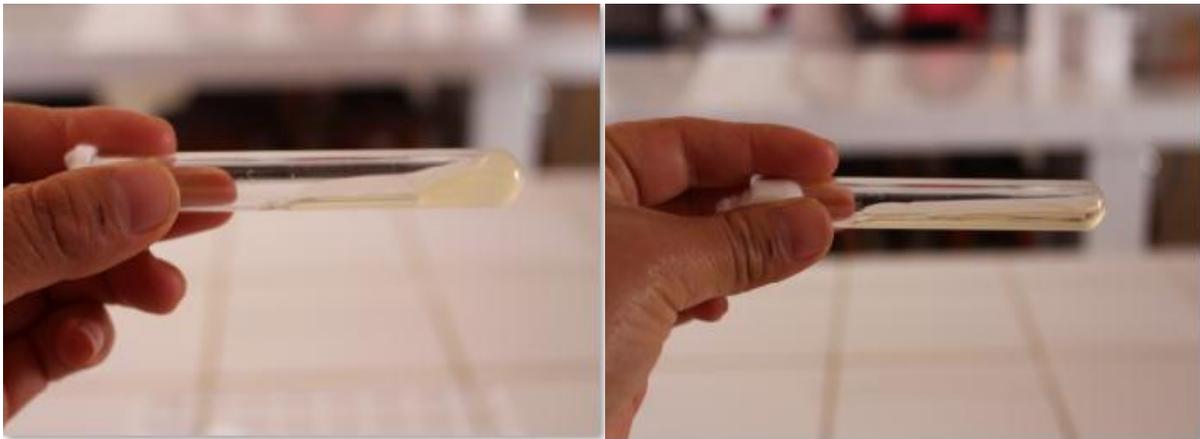
Fotografía 9. Examinación de presencia o no de gas en la campana de Durham



Fotografía 10. Determinación de presencia o ausencia de *Salmonella sp* y *Shigella* en 25g de alimento



Fotografía 11. Colonias características de *Staphylococcus aureus* en agar Salado Manitol



Fotografía 12. Prueba de la coagulasa de colonias sospechosas de *S. aureus* crecidas en agar salado manitol. A la derecha prueba negativa

ANEXO 5

		UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS			
ENCUESTADOR					
FECHA					
PROVINCIA				DISTRITO	
NOMBRE DE LA EMPRESA/PROPIETARIO					
Marcar con una X el producto lácteo que oferta el centro de venta					
PRODUCTO LACTEO QUE OFERTA	QUESO FRESCO				
	QUESO MADURADO				
	YOGURT				
Subrayar el tipo de venta de acuerdo a la información proporcionada					
Venta diaria/semanal/mensual (Kg- Lt-Unidades)		Queso fresco			
		Queso madurado			
		Yogurt			
Precio de venta del Kg-Lt-Unidad de queso, yogurt (S/.)		Queso fresco			
		Queso madurado			
		Yogurt			
¿Cuanto tiempo permanece el producto en el centro de venta?					
Lugar de Procedencia del producto					
Nombre de la Persona u empresa que abastece el producto					
Hora y día de la semana en que se recibe el producto					
Lugar donde se recibe el producto					
<hr style="width: 30%; margin: 0 auto;"/> FIRMA DEL RESPONSABLE DEL CENTRO DE VENTA DNI N°		<hr style="width: 30%; margin: 0 auto;"/> FIRMA DEL ENCUESTADOR DNI N°			

ANEXO 6

n°.	DISTRITO	DIRECCIÓN	NOMBRE	PRODUCTO LÁCTEO	CANTIDAD	F Frecuencia	PRECIO	TIEMPO
1	Pomacochas	Jr.Pomacochas s/n	Adela Vásquez Pérez	Queso fresco	100 unidades	Diario	S/.2.00	2 horas
2	Pomacochas	Jr.Fernanando Belaunde Terry s/n	María Ester Poclín T.	Queso fresco	150 unidades	Diario	S/.2.00	1 día
3	Pomacochas	Jr.Fernanando belaunde Terry s/n	Neoemí Frías	Queso fresco	50 - 100 unidades	Diario	S/.2.50	1 día
4	Pomacochas	Jr.Fernanando Belaunde Terry s/n	Wilder Saldaña A.	Queso fresco Andino	20 unidades	Semanal	S/.9.00	1 semana
5	Pomacochas	Jr. Fernanando Belaunde Terry s/n	Lácteos Pomalác	Queso fresco	50 unidades	Diario	S/.2.00	1 día
				Queso madurado	20	Diario	S/.16.00	1 día
				yogurt	15	Diario	S/.5.00	1 día
6	Pomacochas	Jr. Fernanando Belaunde Terry s/n	Lácteos el Ganadero	Queso fresco	8 unidades	Diario	S/.2.50	1 día
				Queso madurado	10 kg	Diario	S/.16.00	1 día
				yogurt	30 a 40 litros	Diario	S/.5.00	1 día
7	Pomacochas	Jr.Fernanando Belaunde Terry s/n	Erlita Cruzado S.	Queso madurado	20 unidades	Semanal	S/.13.00	1 día
8	Pomacochas	Jr.Pomacochas s/n	Mirta Pinedo Valle	Queso madurado	60 unidades (18Kg)	Diario	S/.2.00	1 día
9	Pomacochas	Jr.Fernanando Belaunde Terry s/n	Lácteos La Pomacochita	Queso fresco	100 unidades	Diario	S/.2.50	1 día
				yogurt	60 litros	Diario	S/.5.00	1 día
10	Pomacochas	Jr.Fernanando Belaunde Terry s/n		yogurt	10 a 15 litros	Diario	S/.4.00	1 día
11	Leymebamba	Jr.16 de Julio n°608	-	Queso fresco	20 unidades	Diario	S/.3.00	2 días
12	Leymebamba	Jr. Bolivar	Nely Chuquizuta	Queso mantecoso	10 unidades	Diario	S/.3.00	1 día
13	Leymebamba	Jr. Sucre n° 211	Nancy Chuquizuta	Queso mantecoso	20 unidades	Diario	S/.3.00	2 días
14	Leymebamba	-	La Paisita	Queso fresco	15 unidades (Kg c/u)	Diario	S/.15.00	2 día
				yogurt	10 litros	Diario	S/.5.00	1 día
15	Leymebamba	-	Lucy	Queso mantecoso	15 unidades	Diario	S/.5.00	1 día
				Yogurt	5 litros	Diario	S/.5.00	1 día
16	Leymebamba	Chacio	SONAGAN	Producción de Cuajada				
17	Leymebamba	Asociación de productores lácteos y licores la Lemycha, Amazonquez		Sin actividad				
18	Molinopampa	Jr. José Olaya	Molilac	yogurt	5 litros	Diario	S/.4.50	1 día
				Queso fresco	40 unidades	Diario	S/.2.50	1 día
				Queso suizo	3 kg	Diario	S/.18.00	1 día
19	San Nicolás	Mercado Mesa Puesto n°. 4	-	Queso fresco	30 unidades	Diario	S/.2.50	1 día
20	San Nicolás	Mercado modelo mesa n°. 6	-	Queso fresco	20 unidades	Diario	S/.2.50	2 día

21	Molinopampa	-	Rigoberto Servan	Quesillo	17 kg	5 días	S/.9.00	
22	Molinopampa	Asociación agropecuaria La lomada		Producción y entrega de leche				
23	San Nicolás	Mercado modelo mesa n°. 3	-	Queso fresco	25 unidades	Diario	S/.2.50	1 día

ANEXO 7

HOJA DE DATOS			
Persona responsable del muestreo:			
Datos generales			
Localidad:	Fecha:	Hora:	
Lugar			
Nombre del productor y/o asociación:			
Dirección:			
Observaciones /situaciones presentadas durante la toma de muestra: uniforme, protector de cabello, boca y guantes			
Muestra			
Tipo alimento: Solido		código muestra	
Almacenamiento	a	Refrigeración	b Medio ambiente
Descripción del envase de venta:			
Transporte			
Destino	UNTRM-CHACHAPOYAS	Hora salida	
		Hora llegada	
		Tiempo transcurrido	

ANEXO 8

DETERMINACION DE LA ACIDEZ TITULABLE

- Se pesó 1 g de muestra triturada y se colocó en un vaso de precipitación
- Se añadió 9ml de agua destilada
- Se agregó 3 a 5 gotas de indicador, luego se homogenizo la muestra
- Se tituló la muestra hasta el cambio de color del indicador a rojo grosella, y se anotó el volumen gastado de titulante.

Reacción de neutralización:



- Se calculó el porcentaje de acidez, con la siguiente formula:

$$\% \text{Acidez} = \frac{N \times V \times P_{\text{equiv}} \times 100}{W_m}$$

N: Normalidad del NaOH (0.1 N)

V: Volumen gastado de álcali o sosa usada (NaOH)

P equivalente: peso equivalente del ácido predominante, del ácido láctico (0.092)

W_m: peso de la muestra

DETERMINACION DE LA HUMEDAD

- Se pesó 30 g de muestra homogeneizada en placa Petri previamente tarada. Registrar (W_m).
- Se colocó en la estufa a la temperatura y tiempo recomendado 42°C x 24 horas.
- Al culminar el tiempo de secado se pesó nuevamente la placa Petri más la muestra (W_f)
Cálculo del porcentaje de humedad Cálculos:

$$\% \text{H} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

H: Contenido de humedad expresada en porcentaje (%)

m₀: Masa de la placa Petri utilizada.

m₁: Masa inicial de la muestra más la masa de la placa Petri.

m₂: Masa final de la muestra más la masa de la placa Petri.

ANEXO 9

DETERMINACION DE GRASA TOTAL

- a) Molido y tamizado de la muestra. Las muestras deshidratadas a la temperatura y tiempo antes mencionado, se tamizaron utilizando un mortero y pilón.
- b) Se puso a secar en estufa a 103 ± 2 °C los vasos de aluminio a utilizar por un periodo de 30 minutos, para luego llevarlo a un desecador, hasta enfriara a T° ambiente, y luego pesarlo. (W_i)
- a) Se pesó de 3 gramos de la muestra tamizada en papel filtro previamente tarado, y se anotó el peso de la muestra exacta con cuatro decimales (W_m).
- b) El papel filtro se empaquetó y luego se transportó al cartucho de celulosa
- c) Se colocó los cartuchos contenido la muestra en el extractor de grasa adherido al soporte de cartuchos.
- d) Se Adicionó 50 A 60 ml de éter de petróleo a cada muestra (vaso de aluminio) y ponerlo en el equipo para empezar el proceso.
- e) Se fijó el programa adecuado, y se puso en marcha el equipo de refrigeración, para dar inicio al proceso de determinación de grasa total.
- f) El proceso de extracción duró aproximadamente 3 horas, tiempo en el cual el solvente calentado a 120°C, pasa por las muestras para extraer la grasa. Los solventes con la grasa disuelta caen en el vaso de aluminio y se evapora, siendo recuperado al pasar por el serpentín de refrigeración.
- g) La grasa extraída queda depositada en el vaso de aluminio.
- h) Trascurrido el tiempo de extracción sacaron los vasos del equipo y se introdujo en estufa a 103 ± 2 °C, por un periodo de 30 minutos, con la finalidad de eliminar algún residuo del solvente orgánico utilizado.
- i) Finalmente se retiraron los vasos de la estufa, que contienen la grasa extraída, y se pesaron inmediatamente, se anotó el peso final(W_f).

Calculo y expresión de resultados

$$\%Grasa\ Total = \frac{W_f - W_i}{W_m} \times 100$$

Donde:

W_i = Peso inicial del vaso vacío

W_f = Peso final del vaso que contiene la materia grasa extraída

W_m = Peso de la muestra deshidratada

Para efectos de resultados, puesto que la NTP 202.195, establece parámetros de materia grasa en extracto seco GES, se utilizó la siguiente formula:

$$\%GES = \frac{\% \text{ de grasa en el queso}}{100 - \% \text{ humedad del queso}} \times 100$$

+

ANEXO 10

DETERMINACION DE NITOGENO TOTAL

Digestión o destrucción de la materia orgánica: en un tubo de digestión se colocó 1 g de muestra, 5 g de catalizador más 15 a 20 ml de H_2SO_4 concentrado. Se digirió la muestra hasta obtener un contenido líquido trasparente nítido con coloración azul claro (sulfato de amonio).

Destilación: Finalizada la digestión, el contenido del tubo de digestión se diluyó con 25 ml de agua destilada, luego se dosifico 50 a 75 ml de NaOH, se adaptó al dispositivo destilatorio y se destilo, recibiendo el destilado (borato de amonio) en un colector que contiene 55 ml de indicador ácido bórico en presencia de indicador mixto, el mismo que contiene 0.2% de verde de bromocresol + 0.2% rojo de metilo, por 5 a 7 minutos aproximadamente.

Titulación: El destilado fue valorado con una solución de HCl, hasta observar el viraje del medio a color rosado. Se anotó el volumen gastado de titulante y se realizó los cálculos como se indican en el anexo...

La digestión

- a) Se pesó 1 g de muestra homogenizada, en papel filtro libre de nitrógeno, también una tableta o 5 g de catalizador, y estos en un tubo de digestión.
- b) Se añadió 15 a 20 ml de H_2SO_4 concentrado p. a. + 3 ml de N_2O_2 , luego se los tubos en el sistema de digestión (bloque digestor)
- c) Se tapan los tubos con el colector de humos
- d) Adicionamos a la bomba de vacío 10 L de agua + 20 g de Na_2CO_3
- e) Adicionamos a la unidad Scrubber 600 ml de agua a cada botellón (2 unidades) + 150g de Na_2CO_3

- f) Se puso en funcionamiento el sistema de bomba de vacío y unidad Scrubber (sistema de extracción de humus)
- g) Se realizó el proceso de digestión en 3 pasos

Paso 1: 125°C 30 Extraer humedad

Paso 2: 300°C 30 Controlar humus blancos

Paso 3: 400°C 60 – 90 Mineralización del amoniaco

- h) El proceso de digestión termina cuando el contenido del tubo sea un líquido transparente nítido con coloración azul claro.
- i) Se dejó dejar enfriar 30 – 60 minutos, con la extracción de humus conectado, antes de retirar las muestras del bloque digestor.
- j) Para luego dejar enfriar a temperatura ambiente.

Destilación automática

- k) Se añadió despacio 25 ml de agua destilada agitando constantemente sin dejar solidificar la muestra en cada tubo.
- l) Se Colocó luego el tubo con la muestra en el equipo de destilación.
- m) Se programó una dosificación de 50 a 75 ml de NaOH, (dependiendo de la cantidad de nitrógeno de la muestra, la cantidad dosificada de NaOH será correcta cuando la muestra este totalmente de color azul), muestras con alto contenido de nitrógeno requerirán mayor cantidad de NaOH, mientras que muestras con bajo contenido de nitrógeno requerirán menor cantidad de NaOH. La solución de NaOH debe estar libre de sales de amonio para evitar su interferencia con el resultado
- n) Se dosificó al colector 55 ml de indicador ácido bórico, que contiene (40 g de ácido bórico + 10 ml de indicador mixto N° 4.8 o 5; por litro de solución), (el indicador mixto contiene 0.2% de verde de bromocresol + 0.2% rojo de metilo). El cual servirá para recibir el destilado (borato de amonio).
- o) El indicador ácido bórico debe estar entre un rango de absorbancia de 0.630 – 0.670 nm, si es superior o inferior a estos parámetros, se tendrá problemas en la titulación.
- p) Una vez realizado todos los parámetros establecidos anteriormente, se procederá con la destilación automática.

q) La destilación termina cuando ya no pasa más amoníaco al colector aproximadamente de 5 – 7 minutos para luego ser titulada.

Titulación:

- r) El borato de amonio recibido en el colector o matraces Erlenmeyer, será titulada con HCl de normalidad conocida o con H_2SO_4 .
- s) El ácido reacciona con el borato de amonio y un pequeño exceso de ácido provocara un cambio del PH y el consiguiente viraje (color rosado)

Calculo de resultados:

$$\% N = \frac{14 \times N \times V}{m \times 1000} \times 100$$

$$\% \text{Proteína} = \% N \times \text{factor}$$

Donde:

V: 50 mL H_2SO_4 0.1 N - gasto de HCl 0.1 N

m: masa de la muestra en gramos

factor: 6.25 para proteínas en general.

ANEXO 12

ANALISIS MICROBIOLÓGICO

Se realizó un pre enriquecimiento de la muestra utilizando un medio de enriquecimiento líquido para favorecer el crecimiento de los microorganismos, para ello se pesó 50 g de muestra y se colocó en un vaso estéril con 50 ml de caldo peptonado al 0.1%, dejando luego en reposo por un tiempo de 12 a 24 horas a medio ambiente.

Bacterias aerobias mesófilas viables

- a) Preparación de la muestra: En principio la preparación de la muestra sólida consistió en realizar una suspensión de la muestra en caldo peptona para el enriquecimiento.
- b) Preparación de diluciones decimales: A partir de la suspensión inicial se realizó diluciones seriadas con 1 mL de la muestra con 9 mL de caldo peptonado, hasta dilución de 10^{-3} .
- c) Inoculación: Posteriormente la inoculación consistió en transferir 1 mL de la dilución inicial a una placa petri, se repite este procedimiento para las siguientes diluciones, para luego añadir de 12 a 15 mL de medio fundido templado a 35°C para cada una de las placas, acto seguido se procedió a la homogenización de la muestra a través de movimiento circulares (5 veces en sentido de las agujas del reloj y 5 veces en sentido contraria a las agujas del reloj).
- d) Incubación: Para la incubación se invierten las placas y se colocan 37°C por 24-48 horas.
- e) Recuento: Al finalizar este periodo se selecciona la placa que tiene entre 30 a 300 UFC/g, si supera los 300 UFC/g no se realiza el recuento.
- f) Expresión de resultados: Se cuentan todas las colonias a trasluz y se determina el recuento estándar aplicando la siguiente formula:

$$N = x \times d$$

Donde:

N: Recuento en UFC/g

X: Recuento promedio de microorganismos mesófilos aerobios

d: Factor de dilución de la placa que obtuvo el recuento.

Los valores de recuento estándar en placa se expresaron usando únicamente dos cifras significativas empezando por la izquierda, los dígitos restantes se reemplazan con ceros, en caso que el tercer dígito es igual o mayor a 5 se redondea (DIGESA, 2001).

Enterobacterias

Se determinó la presencia de enterobacterias de la siguiente manera:

- a) Siembra: se utilizó la técnica de siembra por estría en agar mackonkey, es decir con un asa bacteriológica se tomó un inóculo y, por agotamiento y estría se efectuó la siembra.
- b) Incubación: A 37°C por un lapso de 24 a 48 horas.
- c) Examinación de las placas: se observó el color de las colonias, son lactosa negativa si presentan un color transparente y lactosa positiva las colonias rojas con un halo turbio debido al descenso del pH.
- d) Expresión de resultados: Los resultados se expresaron de forma cualitativa: presencia (+) o ausencia (-).

Coliformes totales

El ensayo consistió en sembrar diluciones decimales y seriadas de la muestra por incorporación en caldo lactosa verde brillante bilis 2%. Las sales biliares y el colorante verde brillante inhiben el crecimiento de gérmenes Gram positivos, incluso los que metabolizan la lactosa como clostridios, mientras que los gérmenes lactosa positivos consumen lactosa con producción de gas.

- a) Preparación de la muestra
- b) Preparación de diluciones decimales: A partir de la suspensión de la muestra enriquecida, se realiza las diluciones decimales con 9 ml de agua peptonada al 0.1% mas 1 mL de la muestra. Para la preparación de las posteriores diluciones, se transfiere 1mL de la dilución 10^{-1} en 9 mL del diluyente, se trabajó con dilución 10^{-3} .
- c) Inoculación: La siembra se realiza por diluciones de ($10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$), para ello se transfiere 1mL de cada uno a tubos que contienen caldo brilla verde brillante.
- d) Incubación: En baño maría a 37 °C por 24 a 48 horas.

- e) Examinación de los tubos de ensayo: Al finalizar el periodo de incubación se examina la producción de gas en la campana de Durham.
- f) Expresión de resultados: para determinar el NMP/g de coliformes totales en función a los niveles de dilución de la muestra y el número de tubos positivos (presencia de gas en la campana Durham) confirmados de cada dilución, se utiliza la tabla del Anexo 5.

Coliformes termo tolerantes o fecales

- a) Cuando se detectó la presencia de coliformes totales en función a la producción de gas, se realizó lo siguiente:
- b) Incubación: se dejó incubar 42 °C por 24 a 48 horas en diluciones de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}
- c) Expresión de resultados: el resultado se leyó en las tablas con la técnica del número más probable.

Determinación de salmonella y shiguella

a) Pre enriquecimiento no selectivo de la muestra. Consiste en la preparación de la suspensión inicial de la muestra para el aislamiento de salmonella, para ello se pesó asépticamente 25 g de muestra en vaso de precipitación estéril, se añadió luego 50 mL de agua peptonado como diluyente, se homogeniza el medio, y se dejó reposar de 12 a 24 horas a temperatura ambiente.

b) Aislamiento: Se agita suavemente la muestra. Para realizar la siembra en agar *Salmonella-Shiguella* por agotamiento y estría, se tomó una asada del cultivo obtenido utilizando un asa bacteriológica.

Se incubo las placas a 37 °C por un tiempo de 24 a 48 horas, al culminar este tiempo se procedió a examinar las placas para detectar colonias sospechosas de salmonella. Las colonias características de salmonella en Agar SS son incoloras o transparentes, con o sin centro negro.

c) Identificación bioquímica: Estas colonias características son sospechosas, para realizar la identificación bioquímica se utiliza cultivos puros, para el cual las colonias seleccionadas se siembra por estría en agar ss para obtener colonias aisladas, hasta entonces se realizó las siguientes pruebas bioquímicas:

Siembra en agar triple azúcar hierro (TSI): esta prueba bioquímica se basa en la capacidad de las bacterias de metabolizar los hidratos de carbono y producir ácido sulfúrico; el medio contiene 0.1% de glucosa y 1% de lactosa y sacarosa, un pH de 7.20 a 7.60, además contiene rojo de fenol como indicador de pH. Si el microorganismo fermenta glucosa, tanto la punción como la estría aparecerán de color amarillo. Si el organismo fermenta lactosa y/o sacarosa, la estría permanecerá ácida (amarilla). Si no fermenta lactosa, la estría se vuelve alcalina (roja). Los organismos que no fermentan glucosa no producen cambios en el pH del

medio o producirán productos alcalinos y el medio TSI permanecerá rojo. La producción de SH₂ se manifiesta por un ennegrecimiento del medio (Terragno, Caffer, & Binsztein, 2007)

a) Siembra: Se toca suavemente el centro de la colonia seleccionada y se siembra en estría la superficie inclinada del agar (pico de flauta) y la parte profunda por picadura.

b) Incubación: Se incuba a 35 °C ± 1 °C durante 24 h ± 3 h.

Siembra en agar lisina hierro(LIA): este medio de cultivo tiene un pH de 6.5 a 6.9, es utilizado para la diferenciación de microorganismos, basado en la descarboxilación de lisina a cadaverina y la producción de ácido sulfhídrico, el medio contiene purpura de bromocresol como indicador de pH, es decir vira a color amarillo con el pH es igual o menor a 5.2.

se realiza la misma operación que para la siembra en TSI, tomando una asada de la colonia que fue seleccionada.

Siembra en agar citrato de Simmons: este medio sirve para la identificación de *Escherichia coli*, basado en el metabolismo de citrato como única fuente de carbono. El crecimiento es positivo (degradación del citrato por los microorganismos) cuando el color del medio vira a color azul oscuro, es negativo cuando no se observa cambio en el color del medio. *Citrobacter*, *enterobacter*, *Salmonella parathyphi B*, *Klebsiella*, *Serratia* son citrato positivos, mientras que *Shiguella*, *Escherichia*, *S.Typhi* y otros son citrato negativos.

El análisis de las pruebas bioquímicas se realizó mediante el uso del cuadro de interpretación del anexo 6.

Generalmente la reacción metabólica característica de salmonella en agar TSI, es alcalina(rojo) en la parte inclinada del medio y en la columna del medio una reacción acida(amarillo), con o sin producción de H₂S (oscurecimiento del agar). La reacción típica de salmonella en agar LIA es alcalina(purpura) en la columna del medio del tubo.

Staphylococcus aureus: Para cuantificar la carga microbiana en el queso fresco se utilizó agar salado manitol como medio de cultivo sólido, selectivo y diferencial para bacterias del genero *Staphylococcus*, se usa para aislamiento de *S. patógenicos* (*s. aureus*, *s. epidermis*, *s.saprophyticus*, *s.capitis*, *s. haemolyticus*). Se realizó el siguiente procedimiento:

- a) Preparación de la muestra
- b) Preparación de diluciones decimales
- c) Siembra: siembra por incorporación en medio de cultivo agar salado manitol. Con una pipeta estéril se transfirió 1 mL de la muestra a una placa, se añadió de 15 a 20 mL de agar salado manitol temperada a 45 °C y luego se realizaron movimientos suaves para homogenizar el medio.
- d) Incubación: Se incubo a 37°C por 48 horas.
- e) Recuento: Al término de la fase de incubación se observó en placa las características de la colonia, los *staphylococcus* coagulasa positivo hidrolizan el manitol, acidificando el medio, entonces las colonias aparecen rodeadas de una zona amarilla brillante, mientras que las colonias coagulasa negativa presentan colonias de una zona roja y purpura.
- f) Expresión de resultados: se anotó el número de colonias amarillas y con halo brillante, luego se hizo el cálculo con la siguiente formula:

$$N = x \times d$$

Donde:

N: Recuento en UFC/g

X: Recuento promedio de microorganismos mesófilos aerobios

d: Factor de dilución de la placa que obtuvo el recuento.

ANEXO 13

Número más probable (NMP) de bacterias. Tres tubos de cada dilución

Números de tubos positivos en cada nivel de dilución			NMP por g	Límites de confianza			
Dilución	Dilución	Dilución		99%	95%		
10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³					
0	1	0	3	1	23	1	17
1	0	0	4	1	28	1	21
1	0	1	7	1	35	2	17
1	1	0	7	1	33	2	28
1	2	0	11	2	44	4	35
2	0	0	9	1	50	2	38
2	0	1	14	3	62	5	48
2	1	0	15	3	65	5	50
2	1	1	20	5	77	8	61
2	2	0	21	5	80	8	63
3	0	0	23	4	177	7	129
3	0	1	40	10	230	10	180
3	1	0	40	10	290	20	210
3	1	1	70	20	370	20	280
3	2	0	90	20	520	30	390
3	2	1	150	30	660	50	510
3	2	2	210	50	820	80	640
3	3	0	200	100	1900	100	1400
3	3	1	500	100	3200	200	2400
3	3	2	1100	200	6400	300	4800

ANEXO 14

REACCIONES BIOQUIMICAS DE ENTEROBACTERIACEAE EN TSI - LIA

GRUPO I HIDROGENO SULFURADO(H₂S) POSITIVOS						GRUPO II HIDROGENO SULFURADO(H₂S) NEGATIVOS					
ANAEROGENICOS (GAS NEGATIVO)						ANAEROGENICOS (GAS NEGATIVO)					
TSI	GAS	H ₂ S	LIA	INDOL	ENTEROBACTERIA	TSI	GAS	H ₂ S	LIA	INDOL	ENTEROBACTERIA
K/A	-	± ó +	K/K	-	Salmonella Typhi	K/A	-	-	K/A	- ó +	Shiguella
ANAEROGENICOS (GAS POSITIVO)						A/A ó K/A	-	-	K/K ó k/N	+	Escherichia
TSI	GAS	H ₂ S	LIA	INDOL	ENTEROBACTERIA	A/A ó K/A	-	-	K/A	- ó +	Enterobacter(°)
K/A	2+ -	4+	K/K	-	Salmonella	A/A	-	-	K/K	-	Serratia
K/A ó A/A	2+ -	4+	K/K	-	Arizona	K/A	-	-	R/A	+	Proteus
K/A ó A/A	2+ -	4+	K/A	-	Citrobacter	K/A	-	-	R/A	+	Providencia
K/A ó A/A	2+ -	4+	R/A	- ó +	Proteus	A/A	-	-	A/A ó K/A	- ó +	Yersinia
K/A	2+ -	4+	K/K	+	Edwardsiella	AEROGENICOS (GAS POSITIVO)					
K= alcalino A= ácido R= rojo N= neutro (°) = enteropatógenos importantes						TSI	GAS	H ₂ S	LIA	INDOL	ENTEROBACTERIA
						A/A ó K/A	2+	-	k/k ó k/A	+	Escherichia
						A/A	4+	-	k/k	- ó +	Klebsiella
						A/A ó K/A	3+	-	k/k ó k/A	-	Enterobacter
						K/A ó A/A	2+	-	k/k	-	Serratia
						K/A	(+)	-	K/A ó R/A	+	Proteus (°)
						K/A	+	-	K/A ó A/A	-	Paratyphi A (°)

ANEXO 15

ANÁLISIS DE VARIANZA – CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS

ANVA -Acidez total por localidad

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Localidad	2	2.04432	1.02216	7.32	0.0027
Error	29	4.05	0.13955		
Total	31	6.0912			

ANVA - pH por localidad

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Localidad	2	1.57388	0.7869	6.04	0.0064
Error	29	3.77959	0.13033		
Total	31	5.35340			

ANVA - Humedad por localidad

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Localidad	2	614.14	307.072	10.7	0.0003
Error	29	835.64	28.815		
Total	31	1449.79			

ANVA - Grasa total por localidad

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Localidad	2	224.82	112.41	15.7	0.000
Error	29	207.62	7.159		
Total	31	432.44			

ANVA -Grasa en extracto seco por localidad

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Localidad	2	496.17	248.086	3.51	0.043
Error	29	2047.24	70.594		
Total	31	2543.41			

ANVA – Proteína cruda por localidad

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Localidad	2	412.855	206.427	33.5	0.0000
Error	29	178.90	6.169		
Total	31	591.756			

ANVA - %Acidez titulable por productores

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Localidad	15	5.49180	0.36612	9.77	0
Error	16	0.59940	0.03746		
Total	31	6.09120			

ANVA - pH total de queso fresco por productores

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Localidad	15	4.24655	0.2831	4.09	0.004
Error	16	1.10685	0.06918		
Total	31	5.35340			

ANVA - % Humedad de queso fresco por productores

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Localidad	15	963.81	64.2537	2.12	0.0742
Error	16	485.98	30.3738		
Total	31	1449.79			

ANVA - Grasa por productores

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Localidad	15	380.522	25.3681	7.82	0.0001
Error	16	51.916	3.2448		
Total	31	432.439			

ANVA – Grasa en extracto seco por productores

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Localidad	15	1839.50	122.633	2.79	0.0250
Error	16	703.91	43.994		
Total	31	2543.41			

ANVA - Proteínas por productores

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Localidad	15	584	38.9540	83.70	0.0000
Error	16	7.446	0.46540		
Total	31	592			

ANVA Mesófilos aerobios viables (UFC/g) - por localidad

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Localidad	2	1.94E+11	9.70E+10	1.13	0.3377
Error	29	2.50E+12	8.61E+10		
Total	31	2.69E+12			

ANVA Coliformes totales(NMP/g) - por localidad.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Localidad	2	9.47E+05	4.74E+05	5.63	0.0086
Error	29	2.44E+06	8.42E+04		
Total	31	3.39E+06			

ANVA - Coliformes fecales(NMP/g) - por localidad

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Localidad	2	3.69E+05	1.84E+05	1.3	0.2891
Error	29	4.13E+06	1.42E+05		
Total	31	4.50E+06			

ANVA *S. aureus* (UFC/g) - por localidad

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Localidad	2	1.38E+10	6.91E+09	1.91	0.1662
Error	29	1.05E+11	3.62E+09		
Total	31	1.19E+11			

ANVA - Mesófilos aerobios viables por productores

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Localidad	15	2.11E+12	1.41E+11	3.87	0.0053
Error	16	5.81E+11	3.63E+10		
Total	31	2.69E+12			

ANVA – Coliformes Totales por productores

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Localidad	15	1.83E+06	1.22E+05	1.25	0.3301
Error	16	1.56E+06	9.74E+04		
Total	31	3.39E+06			

ANVA – Coliformes fecales por productores

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Localidad	15	2.94E+06	1.96E+05	2.01	0.0886
Error	16	1.56E+06	9.74E+04		
Total	31	4.50E+06			

ANVA – *S. aureus* por productores

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Localidad	15	1.09E+11	7.26E+09	11.8	0.0.0000
Error	16	9.85E+09	6.15E+08		
Total	31	1.19E+11			