## UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA FACULTAD DE VETERINARIA

## "EVALUACIÓN DE LA CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA DE QUESOS ARTESANALES DE PASTA DURA ELABORADOS EN LA ZONA DE COLONIA, URUGUAY"

por

Marisol BARNECHE CIRISOLA Marcelo VILLAGRÁN GAGO

TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias Orientación: Higiene, Inspección-Control y Tecnología de los Alimentos

MODALIDAD Estudio de caso

MONTEVIDEO URUGUAY 2022

# PÁGINA DE APROBACIÓN

Presidente de Mesa:	Dra. Cristina-Rios
Segundo Miembro (Tutor):	
	See Con
	Dra. Silvana Carro
Torogr Miombros	Custiment of
Tercer Miembro:	Dra. Cristina López
Autores:	mich
	Marisol Barneche
	Marcelo Villagrán

Fecha:14 Diciembre de 2022

## **AGRADECIMIENTOS**

- A la Dra. Silvana Carro, por habernos dado la oportunidad de realizar este trabajo, guiarnos durante todo el proceso y por los conocimientos enseñados y compartidos.
- A los integrantes de la Unidad Académica Ciencia y Tecnología de la Leche y Salud Pública Veterinaria por el apoyo recibido en las diferentes etapas del trabajo.
- A las y los productores del Departamento de Colonia, por permitirnos realizar este trabajo.
- A nuestros amigos y compañeras de trabajo por estar siempre presentes y ser parte de este camino.
- A nuestras familias, por su apoyo, cariño e incentivo continúo. A ellos les dedicamos este trabajo.

## TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	
TABLA DE CONTENIDO	
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	6
RESUMEN	
SUMMARY	
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	. 9
Producción mundial de leche	
Producción Láctea en América Latina	
Producción de leche en Uruguay	.10
Definición de leche y composición	
Calidad de leche	
Sistema Nacional de Calidad de Leche en Uruguay	. 13
Especificaciones del Reglamento Bromatológico Nacional (RBN)	. 14
Definición y calidad de queso	. 14
Calidad Higiénico-Sanitaria de Quesos Artesanales	. 15
Principios de la elaboración del queso	. 16
Tratamientos previos de la leche	. 17
Coagulación de la leche	. 18
Desuerado o sinéresis de la cuajada	. 19
Moldeado	. 19
Prensado	. 20
Salado	. 20
Maduración	. 20
Características de queso tipo sbrinz	. 22
Marco legal para quesos artesanales	. 24
Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA)	. 24
Microorganismos importantes en leche y queso	
Staphylococcus aureus	.26
Salmonella spp	27
Escherichia coli	28
Listeria monocytogenes	29
OBJETIVOS	. 31
Objetivo general	. 31
Objetivos específicos	. 31
MATERIALES Y MÉTODOS	. 32
RESULTADOS	. 34
Características de los establecimientos	. 34
Proceso de elaboración de queso artesanal (tipo sbrinz)	. 36
Calidad higiénico-sanitaria en leche cruda	. 36
Recuento Total de Mesófilos Aerobios y Recuento de Células Somáticas	36
Determinación de coliformes totales y recuento de Staphylococcus	
coagulasa positiva	. 37
Calidad de composición	
Calidad en quesos artesanales	
Determinación de coliformes totales y termotolerantes	
Recuento de Staphylococcus coagulasa positiva	
Determinación de Listeria monocytogenes y Salmonella spp	
Análisis microbiológico en agua	. 40

Determinación de coliformes totales y termotolerantes	40
DISCUSIÓN	41
Calidad higiénico-sanitaria en leche cruda	
Calidad microbiológica en quesos artesanales	
CONCLUSIONES	50
RECOMENDACIONES	51
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	52

# LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro I. Composición general de la leche bovina11
<b>Cuadro II</b> . Disposiciones para leche cruda del RBN, (Decreto N° 274/00414 Artículo 16.1.6)
Cuadro III. Valores promedio en porcentaje de materia grasa, proteína, lactosa y sólidos no grasos en leche cruda
<b>Cuadro IV.</b> Determinación de coliformes totales y termotolerantes en muestras de agua por establecimiento
Figura I. Diagrama de flujo de Queso Sbrinz23
Figura II. Análisis realizados a las muestras de leche cruda33
<b>Figura III.</b> Instalaciones e infraestructura de productor pertenecientes al grupo "Los Treinta"
Figura IV. Salas destinadas a salazón y maduración de quesos35
<b>Figura V.</b> Resultados agrupados en categorías del RTMA obtenidos en el total de muestras (n=83) de leche cruda expresados en log <sub>10</sub> ufc/mL36
Figura VI. Resultados obtenidos del RCS en leche cruda (n=83)37
<b>Figura VII.</b> Categorías obtenidas del recuento de coliformes totales en leche cruda (n=83) expresados en log <sup>10</sup> ufc/mL
<b>Figura VIII.</b> Categorías obtenidas del recuento de <i>Staphylococcus</i> coagulasa positiva en leche cruda (n=83) expresados en log <sup>10</sup> ufc/mL38
<b>Figura IX.</b> Determinación de coliformes totales y termotolerantes en el total de muestras analizadas (n=83) de queso artesanal agrupados en categorías y expresado en log <sub>10</sub> NMP/g39
<b>Figura X.</b> Categorías de <i>Staphylococcus</i> coagulasa positiva en queso artesanal tipo Sbrinz (n=83) expresado en log <sup>10</sup> ufc/g39

## **RESUMEN**

La guesería artesanal es un subsector de la producción agropecuaria que desde hace años viene acompañando el crecimiento del sistema lácteo uruguayo. Actualmente se define al queso artesanal como "el queso elaborado con leche cruda, pasteurizada o termizada, producida en el predio, exclusivamente". La participación del queso artesanal en lo que respecta al consumo de gueso en el mercado interno, compite con aquel de origen industrial, siendo aproximadamente el 50% del queso consumido de origen artesanal. Si bien este tipo de producto tiene una demanda significativa, presenta dificultades, siendo las más frecuentes, los problemas relativos a la sanidad del ganado, a la infraestructura de los tambos y queserías, y a los hábitos de higiene en la elaboración de este producto. Las deficiencias higiénicas durante procesamiento, pueden dar origen a un producto que contenga microorganismos que afecten la calidad del mismo o sean patógenos para el consumidor. Por ello, la calidad debe ser óptima desde el punto de vista nutritivo y sanitario. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la calidad higiénico-sanitaria de quesos artesanales de pasta dura elaborados en la zona de Colonia, Uruguay, comparándolas con la reglamentación vigente. Asimismo, se evaluó la calidad de la leche cruda, materia prima para la elaboración de este producto. Se realizaron muestreos durante un año en 10 establecimientos queseros artesanales totalizando 83 muestras de leche cruda y su respectivo queso. Las mismas fueron remitidas para su análisis al Laboratorio del Departamento de Ciencia y Tecnología de la Leche, realizando en las muestras de queso recuento de Staphylococcus coaqulasa positiva, coliformes totales y termotolerantes, así Listeria monocytogenes análisis de v Salmonella establecimientos del presente estudio presentan diferentes características en relación a infraestructura, equipamiento y prácticas de elaboración lo que se refleja en la calidad de sus productos. Los resultados indicaron ausencia de Listeria monocytogenes y Salmonella spp en todas las muestras analizadas. Los recuentos de coliformes totales y coliformes termotolerantes presentaron valores variables y en general, no evidenciaron recuentos elevados. En relación al recuento de Staphylococcus coagulasa positiva se presentaron los mayores problemas con 22,9% (n=19) de las muestras de quesos con recuentos elevados de acuerdo a la reglamentación vigente en nuestro país. En síntesis, en el presente estudio el 69,9% de las muestras (n=58) de queso artesanal resultaron aptas para el consumo.

#### **SUMMARY**

Artisanal cheese is produced exclusively in the farm from raw; pasteurized or thermised milk; belongs to the agricultural production subsector and has accompanied the Uruguayan dairy system growth for many years. Artisanal cheese consumption is approximately 50% of the domestic market competing with industrial cheese. Such product has a significant demand but presents some difficulties like: cattle health problems; dairy farms and cheese factories infrastructure and hygiene habits in the product development process. Process hygiene problems lead to a product containing microorganisms or pathogens that affect the quality or the consumer. Therefore, the quality should be nutritional and sanitary optimal. The aim of this study was to evaluate the hygienic quality of hard paste cheeses produced in Colonia - Uruguay compared to the existing regulations. We also evaluated the raw milk quality, raw material, used in the making of this product. We take raw milk samples (83) and from cheeses made of that raw milk samples from 10 local artisanal cheese makers for a year. We sent those samples to the laboratory of the Department of Milk Science and Technology for the counting of coagulase positive Staphylococcus; total coliforms and thermotolerant as well as Listeria monocytogenes and Salmonella spp. Premises of this study have different characteristics in relation to infrastructure, equipment and processing practices which is reflected in the quality of their products. The results indicated the absence of Listeria monocytogenes, Salmonella spp in all samples analyzed. The counting of total coliforms and thermotolerant coliforms variables had variable values and generally did not show high counts. The coagulase positive Staphylococcus counting showed the biggest problems with 22.9% (n = 19) of cheese samples with high counts according to the regulations in force in our country. As a conclusion in the present study 69.9% of the samples (n = 58)were artisan cheese safe to eat.

## **REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

## PRODUCCIÓN MUNDIAL DE LECHE

La leche y los productos lácteos constituyen una fuente abundante y accesible de nutrientes para la población a nivel mundial. El volumen del comercio internacional de productos derivados de la leche es considerable (Organización Mundial de la Salud (OMS), Organización de las Naciones Unidad para la Agricultura y Alimentación (FAO), 2007), encontrándose en continuo crecimiento y desarrollo. Cada año, la media de la producción mundial aumenta en forma constante, en procura de satisfacer las necesidades y requisitos de las distintas regiones y continentes (Federación Internacional de Lechería (FIL), International Dairy Federation (IDF), 2010). Los cambios demográficos mundiales tales como la migración a las ciudades, mayor ingreso de capital, cambios en el estilo de vida y el aumento de la población inciden en el incremento del consumo de alimentos, particularmente de proteínas de origen animal.

En el 2021 a nivel mundial se produjeron en el entorno de 544,1 millones de toneladas de leche de vaca, lo cual implica un incremento de aproximadamente 4,5 millones de toneladas con respecto al año anterior. La producción mundial se mantiene en un incremento del 2 %, aunque existen períodos de disminución, como en algunos momentos del período 2020-2022. Lo anterior, se explica por efectos de la pandemia por el COVID y la situación económica mundial (Observatorio de la Cadena Láctea Argentina (OCLA), 2022).

Si se considera a los principales países productores e importadores de leche a nivel mundial se mantiene el incremento de producción láctea, destacándose algunos de la Unión Europea y Estados Unidos, por su participación tanto en la producción como en el comercio internacional.

A nivel de América Latina se distinguen como principales países con registros de crecimientos: Argentina, Uruguay, Brasil y Chile (OCLA, 2022).

Según el Informe presentado por la Organización para la Cooperación el Desarrollo Económico (OCDE) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) de octubre del 2021, el sector lácteo fue en comparación con otros el que registró menor impacto por COVID a nivel mundial. En algunos países, se generaron respuestas rápidas y reajuste a nivel del sistema de producción y a nivel laboral, así como medidas en cuanto al envasado y reserva de excedentes, las que permitieron mitigar al mínimo los impactos negativos de la pandemia.

Para el año 2030, se proyecta que a nivel mundial la producción láctea seguirá manteniendo el 1,7% anualmente. El aumento de la demanda será por el consumo de productos frescos de países como India, Pakistán y África, por su crecimiento demográfico y también de acceso existente en esos países.

En cuanto a los países desarrollados, según la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos y Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (OCDE-FAO, 2021), la mayor demanda será en base a productos procesados por las preferencias de

consumo, por ejemplo, los quesos para Europa y América del Norte, lo cual se diferencia de los países en desarrollo, donde las mismas es por los productos lácteos frescos.

## PRODUCCIÓN LÁCTEA EN AMÉRICA LATINA

América Latina, representa el 8% de la población mundial (625 millones de habitantes aproximadamente en el 2018) y es una región relevante en la industria láctea mundial, la cual aporta más del 11% de la producción mundial de leche, con 3,3 millones de productores de leche y una producción láctea de 81,3 millones de toneladas en el 2018 (Federación Panamericana de Lechería (FEPALE), 2018).

La leche en América Latina se produce en diversos sistemas de producción que están determinados por una amplia variedad de climas, altitudes y características regionales y poblacionales.

A su vez, en cuanto a las características de los sistemas productivos existen los que vinculan al productor y su familia en el proceso (como en los casos de la producción familiar o campesina) y la producción del tipo empresarial. La FAO, considera a la agricultura familiar y campesina como un sector clave para lograr la erradicación del hambre y el cambio hacia sistemas agrícolas sostenibles en la región y el mundo. El 80% de las explotaciones lecheras pertenecen a esta agricultura familiar e involucran a más de 60 millones de personas, lo cual representa una de las principales fuentes de empleo agrícola y rural (Sganga, Cabrera, González y Rodríguez, 2014).

#### PRODUCCIÓN DE LECHE EN URUGUAY

La producción de leche de Uruguay representa el 0,3% a nivel mundial (tomando en base a las cifras del 2020 que fueron de 735.270 millones de litros) con un volumen de producción de 2.191 millones de litros (OCLA 2022). Durante esta última década existió mucha incertidumbre para el sector lácteo, lo que se produjo, entre otras causas por, limitaciones climáticas (periodos de sequía), así como el impacto de la pandemia de Covid-19, con repercusiones en la comercialización y aumento de los costos de producción, pero no obstante el crecimiento se mantiene. La remisión a industrias procesadoras es el principal destino con un 84% de la producción (1.846 millones de litros) y un 16% destinada a la elaboración a nivel predial y la venta directa (237 millones de litros), lo cual representó un aumento del 8% en relación al año 2018 (Informe Sector Lácteo 2019, Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca-MGAP).

En nuestro país se destina un 5 % de nuestro territorio a la producción láctea que equivale a unas 756.8 miles de hectáreas, con una marcada concentración en los departamentos de Florida, San José, Colonia, Durazno, Canelones y Soriano (Dirección de Estadística Agropecuaria (DIEA), 2020).

En cuanto a las exportaciones, es el 7º país a nivel mundial en exportar

productos lácteos, destinando el 70% de lo producido a más de 60 mercados (el restante 30 % de la producción láctea abastece al mercado interno) según datos del Instituto Nacional de la Leche (INALE), 2022. Los principales destinos en el 2019 fueron: Argelia (29%), Brasil (20%), Rusia (17%), China (7%), Cuba (6%), México (4%), otros (16%). Los productos que mayormente se exportan son leche en polvo entera (LPE) (62%), luego el queso (16%), manteca (10%), leche en polvo descremada (LPD) (8%) y otros productos (12%) (Uruguay XXI,2020).

Sobre el consumo per cápita en nuestro país, el mismo fue de unos 230 litros en el año 2019, manteniéndose dentro de los más elevados (Uruguay XXI, 2020).

#### DEFINICIÓN DE LECHE Y COMPOSICIÓN

Se entiende por leche, sin otro calificativo, al producto de la secreción mamaria natural obtenido de uno o varios ordeños totales e ininterrumpidos de hembras de varias especies lecheras sanas (vacas, ovejas, cabras o búfalas), adecuadamente nutridas y no fatigadas, recogida en forma higiénica, sin contener calostro y sin adición ni sustracción de sustancia alguna (MSP, 1994).

Químicamente, las sustancias componentes de la leche son agua, lípidos, proteínas, carbohidratos, sales minerales y microcomponentes, tanto orgánicos como inorgánicos (Cuadro I). Asimismo, la leche puede contener una diversidad de microorganismos y células somáticas (Villegas, 2004).

Cuadro I. Composición general de la leche bovina (Walstra et al., 2001)

Componentes	Contenido medio en la leche (%)	Rango (%)
Agua	87,1	85,3 - 88,7
Lactosa	4,6	3,8 - 5,3
Grasa	4,0	2,5 - 5,5
Proteína	3,25	2,3 - 4,4
Sustancias minerales	0,7	0,57 - 0,83
Ácidos orgánicos	0,17	0,12 - 0,21
Varios	0,15	

Los glúcidos de la leche están compuestos esencialmente por lactosa y algunos otros azúcares en pequeñas cantidades, como la glucosa y la galactosa. La lactosa es el componente cuantitativamente más importante de los sólidos no grasos (Amiot y Oria, 1991). Es un disacárido compuesto por D-glucosa y D-galactosa (Walstra, Geurts, Noomen, Jellema y Van Boekel, 2001).

La materia grasa está constituida fundamentalmente por triglicéridos muy distintos que forman una mezcla compleja; sus ácidos grasos presentan grandes diferencias en la longitud de su cadena y en su grado de saturación (Walstra et al., 2001). También contiene otros lípidos como fosfolípidos y cerebrósidos. Asimismo, la fracción grasa incluye esteroles, como el colesterol y sus precursores, y ácidos grasos libres (Amiot y Oria, 1991).

Aproximadamente el 95% del nitrógeno de la leche bovina está en forma de proteínas (Walstra et al., 2001). Como término medio la leche contiene un 3,2% de proteínas de las que el 80% corresponden a caseínas (Amiot y Oria, 1991). La caseína se define como la proteína que precipita en la leche a pH 4,6 y, por lo tanto, no es soluble en ese pH (punto isoeléctrico). No es una proteína globular, ya que se asocia extensamente y se encuentra en la leche en forma de grandes agregados, las micelas de caseína. Dichas micelas están constituidas por agua, proteínas (caseína) y sales (Walstra et al., 2001). Se distinguen cinco tipos de caseínas:  $\alpha_s^1$ ,  $\alpha_s^2$ ,  $\beta$ ,  $\hat{k}$  y  $\lambda$ . Sin embargo, estas fracciones no se consideran homogéneas porque pueden variar en uno o más aminoácidos. El resto de las proteínas se denominan proteínas del lactosuero e incluyen las lactalbúminas y las lactoglobulinas. Son típicas proteínas globulares que se encuentran en la leche en disolución coloidal. Además de las ya citadas hay algunas otras proteínas minoritarias como las enzimas (Amiot y Oria, 1991).

Es importante tener en cuenta que la materia grasa y la caseína de la leche tienen gran importancia en la industria quesera, al ser los sólidos involucrados en el producto final y al estar directamente relacionados con la calidad y rendimiento (Grille, 2016).

A su vez la leche contiene sales inorgánicas y orgánicas. Siendo los principales minerales en la leche son K, Na, Ca, Mg, Cl y fosfato, además de contener muchos otros elementos en cantidades traza (Walstra et al., 2001).

Por otra parte, desde un punto de vista tecnológico se define a la leche como un sistema fluido muy complejo, en el cual coexisten tres subsistemas fisicoquímicos bien definidos en equilibrio dinámico, una emulsión grasa-agua, una suspensión coloidal proteica y una solución verdadera. La leche es entonces un fluido de extrema variabilidad, de manera tal que no existen leches que posean la misma composición y estructura (Villegas, 2004). En este sentido, las principales variaciones se deben a las características individuales de cada vaca (Amiot y Oria, 1991).

#### CALIDAD DE LECHE

La Norma UNIT-ISO 9000:2000, establece la definición de calidad como el "grado en el que un conjunto de características inherentes cumple con los requisitos". La leche es el único alimento producido por las hembras mamíferas indispensable para la supervivencia de su descendencia en las primeras etapas de la vida extrauterina. Por ello, la calidad debe ser óptima desde el punto de vista nutritivo y sanitario. La calidad de la leche para el consumidor se basa en su composición, sabor y también en su conservación (García Viejo y Salinas, 1998). La misma puede concebirse como la suma de las características que la definen (composicionales, nutritivas, físico-químicas, sensoriales, sanitarias, etc.) y que proporcionan una mayor o menor satisfacción al consumidor (Villegas, 2004).

Debe considerarse la calidad en el más amplio sentido de la palabra, es decir: genuinidad (ordeño completo de vacas lecheras sin adulteración ni

conservantes), seguridad (exenta de tóxicos, plaguicidas, radioactividad, sanidad animal y humana) y finalmente composición e higiene. La calidad de la leche determina la aptitud para el empleo de la misma según el producto a que sea destinada (Instituto Plan Agropecuario, 1997, mayo). En este sentido al ser un sistema tan complejo, por su elevado contenido de agua, y en compuestos nutritivos para el desarrollo de microorganismos, es fácilmente alterable (Villegas, 2004).

#### Sistema Nacional de Calidad de Leche en Uruguay

Las exigencias cada vez mayores de las reglamentaciones tanto nacionales como internacionales para la comercialización de la leche y sus derivados, reflejan la importancia de la trascendencia del pago por calidad.

Antiguamente el pago de leche en Uruguay se basó solamente por su volumen. El pago de leche desde el punto de vista de calidad composicional se inició en 1954, pagando la leche exclusivamente por su contenido graso. En relación a calidad higiénica de la misma, las primeras acciones se tomaron en 1963 en la denominada leche calificada, contemplándose la sanidad animal y la infraestructura del tambo. En 1976, se comenzó a pagar en base a las pruebas de reductasa y lactofiltro (determinación indirecta del número de bacterias por la reducción de azul de metileno), otorgándose un incentivo del 10% por calidad y se logra así disminuir el recuento de bacterias. En lo referente a la composición de la leche, en 1991 se comenzaron a hacer los estudios correspondientes para considerar además del contenido graso el tenor proteico para su pago. Posteriormente, en 1993 se inicia otra etapa con el fin de cambiar los parámetros del pago de la leche por calidad higiénica y diferenciar así aquellos productores con mejor calidad. En 1995, el Poder Ejecutivo aprobó por decreto el Sistema Nacional de Calidad de Leche, que empezó a aplicarse en 1997. Este sistema que ha tenido sus modificaciones hasta el presente, implica la clasificación de la leche en categorías de acuerdo con el Recuento Bacteriano (que indica la calidad higiénica de la leche relacionada con la higiene del tambo, rutina de ordeñe, lavado de los equipos, capacidad y funcionamiento adecuado de los tanques de frío, así como posibles fuentes de contaminación en la cadena) y el Recuento de Células Somáticas (proporciona información acerca del estado de salud de la ubre y ese vincula con la composición de la leche) (Instituto Plan Agropecuario, 1997, mayo).

Apenas se implementó el Sistema Nacional de Calidad de leche en 1997 por el Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP), el promedio en leche de Recuento Bacteriano (RB) y el Recuento de Células Somáticas (RCS) disminuyeron, siendo más notorio en el caso del RB según el informe de DIEA 2003. La última modificación, la cual está vigente es del 5 de diciembre del 2016, Decreto N°382/016 artículo 4, estipula los límites máximos del Recuento Bacteriano (RB) de 100.000 ufc/mL y límite máximo del Recuento de Células Somáticas (RCS) 400.000 cél/mL.

Estudios recientes resaltan la importancia de contemplar por un lado los RCS de la leche, los cuales están vinculados como ya se mencionó, a la respuesta inflamatoria del tejido mamario ante injurias tisulares que se evidencia en el

aumento de los RCS. Siendo relevante el integrar a nivel predial medidas para la prevención y control de las causas multifactoriales que generan inflamación de la glándula mamaria de los bovinos, que afectarían la composición y rendimiento de la materia prima para la elaboración de derivados lácteos (Grille, 2016).

En cuanto al Recuento Bacteriano (o Recuento Total de Mesófilos Aerobios) que es indicador como se mencionó de la calidad higiénica relacionada con la rutina de ordeñe, higiene en las prácticas de ordeñe, lavado de los equipos y buen funcionamiento de la cadena de frío (tanque frío), según menciona Grille 2016, en estaciones como el verano, la temperatura ambiental favorece en mayor grado el crecimiento bacteriano, lo cual dificulta el control de la contaminación, siendo otro de los elementos a tener presente para intentar disminuir al máximo la contaminación a partir de buenas prácticas en el tambo.

## Especificaciones del Reglamento Bromatológico Nacional (RBN)

Por otra parte, el RBN (MSP,1994) en las disposiciones para leche cruda, en su última modificación en el Decreto N° 274/004 artículo 16.1.6 (Cuadro II), establece desde el punto microbiológico, la leche cruda deberá cumplir las siguientes especificaciones:

Cuadro II: Disposiciones para leche cruda del RBN

Decreto N° 274/004 Artículo 16.1.6		
Bacterias aerobias mesófitas (ufc/mL)	No deberá sobrepasar el límite de 1 x 10 <sup>6</sup> ufc/mL	
Coliformes totales (mL)	No deberá sobrepasar el límite de 10⁴/mL	
Staphylococcus aureus (ufc/ mL)	Hasta 10 <sup>3</sup> ufc/mL	

#### DEFINICIÓN Y CALIDAD DE QUESO

Con el nombre genérico de queso se entiende "el producto fresco o madurado que se obtiene por separación parcial del suero de la leche o de la leche reconstituida (entera, parcial o totalmente descremada), o de sueros lácteos, coagulados por la acción física del cuajo, de enzimas especificas, de ácidos orgánicos, solos o combinados, todos de calidad apta para uso alimentario" (MSP, 1994).

Veisseyre (1988), define queso de acuerdo a la composición como el producto, fermentado o no, constituido esencialmente por la caseína de la leche, en forma de gel más o menos deshidratado que retiene casi toda la materia grasa, si se trata de queso graso, contiene además ácido láctico y una fracción variable de sustancias minerales.

Según el Ministerio de Salud Pública (MSP, 1994), al queso artesanal lo define como aquel queso elaborado en condiciones artesanales, en forma individual, familiar o asociativa, exceptuando la producción masiva que implique instalaciones y procesos industriales. Para el Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP) en su decreto 65/003, define Queso Artesanal como: "el queso elaborado con leche cruda, pasterizada o termizada, producida en el predio, exclusivamente". Por otra parte, en el RBN, 1994, se define al productor de queso artesanal como: "toda persona física o jurídica que elabora queso artesanal en forma individual, familiar o asociativa".

En cuanto a las variedades de quesos, en donde se tiene en cuenta el tiempo de envejecimiento, textura, contenido graso, la tecnología utilizada para su elaboración y la leche animal (especie), se suelen clasificar en base al contenido de humedad, contenido de grasa y método de maduración (Sulaiman y Ying-Hsin, 2017). En nuestro país, tomamos en cuenta la clasificación en base al contenido de humedad como se plantea en el artículo 16.4.8 del Reglamento Bromatológico Nacional (RBN) del tenemos quesos de baja humedad o de pasta dura (con una humedad máxima de 35.9%), quesos de mediana humedad o de pasta semidura (con humedad entre 36-45.9%), quesos de alta humedad o de pasta blanda (con humedad entre 46-54.9%) y quesos de muy alta humedad o de pasta muy blanda (con humedad mínima de 55%).

#### Calidad Higiénico-Sanitaria de Quesos Artesanales

Como mencionamos en nuestro país, existe en el Sistema lácteo dos subsistemas diferentes, uno de producción de leche fluida con un esquema industrial-dependediente (en donde se promueve los altos índices de productividad y calidad higiénico-sanitaria, a través del pago de la leche remitida a planta) y otro subsistema de producción predial (producción familiar), en donde el destino de la leche es principalmente para la elaboración de quesos artesanales. De esta forma, del total de leche destinada a la producción de queso en Uruguay, del primer subsistema (industrial) es el responsable de un 81.3% y el segundo (producción predial artesanal) es del 18.7% (INALE, 2022).

La elaboración de quesos en el Uruguay comienza con la inmigración europea a partir del año 1861. El origen de los inmigrantes era de regiones productivas agrícolas ganaderas de Italia, Alemania, Francia, Austria, España, y fundamentalmente de Suiza, quienes trajeron consigo la cultura quesera de los Alpes. Estos inmigrantes se ubicaron en zonas de Colonia y San José, donde actualmente se encuentra el mayor porcentaje de productores de queso artesanal (80%) (Borbonet, 2001).

La quesería artesanal que en sus comienzos surgió básicamente por tradición y como forma de conservar la leche, con el tiempo comenzó a utilizarse como fuente de obtención de mayores ingresos en tambos pequeños, utilización de los recursos humanos de la familia y/o menores exigencias de inversión en

equipos de ordeño y refrigeración (PACPYMES, 2006). En este sentido, el uso de mano de obra familiar, más el agregado de valor a la producción de leche, fueron las bases del desarrollo sostenido de estos establecimientos (Bagnato, 2004).

Desde 1990, la quesería artesanal acompañó el crecimiento de la cadena lechera en Uruguay, constituyéndose en un subsector de la producción agropecuaria, que de a poco fue demostrando su inserción a nivel nacional. Entre las dificultades más encontradas, están los problemas relativos a la sanidad del ganado, a la infraestructura de los tambos y queserías, y a los hábitos de higiene en la elaboración del queso. Esta situación repercute en la tan buscada inocuidad de un producto de alto valor proteico (Anchieri, Carrera, Lagarmilla y Aguirre, 2007).

La cantidad de establecimientos dedicados a la quesería artesanal en nuestro país ha disminuido, en el 2004 se estimaban aproximadamente unos 2000 (Bagnato, 2004), para el 2014 se contabilizaba unos 931 establecimientos según encuesta de Instituto Nacional de la Leche (INALE, 2014) y la misma encuesta del 2019, plantea la existencia de 891 establecimientos (INALE, 2022).

A su vez, el 80 % de los establecimientos se ubican en los departamentos de Colonia y San José según datos de la encuesta lechera de INALE 2014, donde el volumen de queso artesanal que abastece el mercado interno equivale a 9 millones de kilos anuales (50 % del total del consumo de quesos en nuestro país) según la misma encuesta.

En la quesería artesanal uruguaya, existen diferentes tipos de productores, los que elaboran un queso básico o cuajada el cual es vendido a pequeñas industrias locales para realizar "quesos fundidos" y los que elaboran queso artesanal propiamente dicho. Los primeros se diferencian de estos últimos, por contar con menos costos en cuanto a infraestructura (cámaras de almacenamiento, etc.). Las limitaciones en dicho sector, están dadas entre otros factores por el escaso volumen de producción (Kg de queso por tambo) y calidad de producción muy variable. Además, uno de los puntos críticos de la quesería artesanal es la pasteurización de la leche. Una de las condiciones que determinan la calidad del queso artesanal es precisamente, la utilización de leche cruda, dado que la leche pasteurizada puede carecer de bacterias que aportan excelentes características de aroma y textura a los quesos artesanales (PACPYMES, 2006).

## PRINCIPIOS DE LA ELABORACIÓN DEL QUESO

La elaboración del queso es un proceso complejo en el que intervienen varias etapas y diversas transformaciones bioquímicas. Todas estas variables influyen sobre el rendimiento, la composición y la calidad del queso. Cuando la leche fresca se deja acidificar a una temperatura no demasiado baja y en reposo se produce la agregación de la caseína (se forma un gel). Normalmente, en esa leche coagulada o gelificada se separa una cierta cantidad de suero (sinéresis),

obteniéndose por una parte la cuajada y por otra el lactosuero. Cuando se elimina la cuajada se obtiene un queso fresco o simplemente "cuajada". Es posible que esta etapa sea el origen de la elaboración del queso. Sin embargo, la leche también se ha coagulado desde hace siglos añadiendo enzimas específicas, en especial el cuajo, que es un extracto del abomaso de los rumiantes. Para elaborar un queso (no fresco) el proceso consta de otras etapas: moldeado, salado y curado o afinado. Estas operaciones se han ido modificando y evolucionando a lo largo del tiempo, lo que ha dado lugar a una enorme variedad de quesos distintos. Cuando la leche se transforma en queso, la caseína y la grasa se concentran, mientras que otros componentes de la leche, en especial el agua, se separan con el lactosuero. Ninguno de los componentes de la leche queda totalmente retenido en la cuajada, aunque sí lo hacen otras sustancias que suelen añadirse, fundamentalmente la sal. El rendimiento y la composición del queso dependen de las características de la leche, sobre todo de su composición y del proceso de elaboración (Walstra et al., 2001).

La transformación de la leche en queso, tradicionalmente se divide en las siguientes etapas: tratamiento previo de la leche, coagulación, desuerado, moldeado, prensado, salado y maduración. Según el tipo de queso que se desea elaborar, estas etapas pueden verse sometidas a pequeñas modificaciones en intensidad, duración, número y orden (Morais, 2004).

#### Tratamientos previos de la leche

Es el conjunto de operaciones a las que se somete la materia prima (leche), previamente a la elaboración del queso y básicamente tiene como objetivos: la limpieza física (filtración y/o clarificación por centrifugación) y microbiana (termización, bactofugación, pasteurización y microfiltración), la normalización o estandarización (desnatado y/o agregado de leche en polvo) y su conservación (refrigeración) (Morais, 2004).

En particular, la pasteurización es el proceso más efectivo de higienización al que puede someterse la leche de quesería (Villegas, 2004). Se define la misma como el proceso en el que se aplica temperatura durante un tiempo determinado con un posterior enfriamiento, cuya finalidad es la destrucción del 100% de los microorganismos patógenos (Salmonella, Staphylococcus, etc.) siendo también afectado un gran porcentaje de gérmenes banales o no patógenos (Borbonet, 2001). A su vez, inactiva algunas enzimas que podrían interferir en la maduración. Además, este tratamiento permite que los cultivos lácticos inoculados (fermentos o starter) se desarrollen sin la competencia de la microbiota original de la leche cruda (Walstra et al., 2001).

La pasteurización, así como otros tratamientos térmicos, alteran la capacidad de coagulación de la leche. Este fenómeno se explica por la inmovilización del calcio iónico del suero al transformar las sales fosfocálcicas solubles en compuestos fosfocálcicos insolubles. Debido a esto, a la leche pasteurizada para quesería se le agrega una sal soluble de calcio, generalmente cloruro de calcio, para restituir el calcio inmovilizado por el tratamiento térmico (Villegas, 2004). Es una práctica común agregar 0,2 a 0,3 mL por litro de leche de una

solución al 50 % de cloruro de calcio (Zehren, 1976). Con esta adición se pretende acelerar la coagulación, reduciéndose la cantidad de cuajo necesaria, originando un gel más firme. Su principal efecto es la disminución de la variación natural en la aptitud para la coagulación de la leche (Walstra et al., 2001).

## Coagulación de la leche

La coagulación de la leche se produce por acción de enzimas, ácidos, o ambos. Se forma un gel como consecuencia de la agregación de las partículas de caseína que constituyen una red en la que quedan atrapados los glóbulos grasos (Scholz, 2007; Walstra et al., 2001).

En la coagulación ácida, al descender el pH coagula la leche, debido fundamentalmente a la acidificación que realizan las bacterias ácido lácticas, el mecanismo fundamental es que la caseína se insolubiliza cerca de su punto isoeléctrico (Alais, 1985; Walstra et al., 2001). Las micelas de caseína, debido al bajo pH (4,6), están muy desmineralizadas y originan un gel de tensión débil, no elástico, friable, permeable y poco contráctil. A causa de su porosidad, el gel láctico puede desuerar espontáneamente, pero dicho desuerado es de amplitud limitada. Debido a no ser apto para el trabajo mecánico, este gel no puede ser sometido a desuerado intenso. Este tipo de cuajada sólo permite la elaboración de quesos sin forma o de tamaño pequeño y con alto contenido de humedad. (Quintanilla y Peña, 1992). La coagulación exclusivamente láctica o ácida sólo se emplea para la elaboración de unos pocos tipos de queso. (Dilanjan, 1984).

Por otra parte, la coagulación enzimática implica la formación de un gel como consecuencia de la acción de enzimas proteolíticas. En general, se produce la coagulación enzimática por acción del cuajo (enzimas obtenidas a partir del abomaso o cuajar de los terneros lactantes, siendo la principal enzima la quimosina) que implica la precipitación de la caseína. La quimosina hidroliza la caseína k, escindiendo sus proyecciones en la superficie de las micelas de caseína. Por una parte, se separa el casein-macropéptido que se disuelve, y por otra la para-k-caseína, que permanece en las micelas. La caseína así modificada se conoce como paracaseína; no puede disolverse ni dispersarse en el suero láctico. Es necesario que hava sido hidrolizada la mayor parte de la caseína k para que se produzca la agregación visible. Las micelas de paracaseína floculan formando agregados irregulares, que finalmente constituyen una red continua: un gel. Como consecuencia de esta acción, las micelas de paracaseína coagulan, siempre que en la leche haya una actividad de Ca<sup>2+</sup> suficiente (Walstra et al., 2001). Las micelas están totalmente mineralizadas y dan lugar a un gel flexible, elástico, de gran cohesión, impermeable y contráctil. Debido a su impermeabilidad no presenta desuerado espontáneo, pero debido a su cohesión y contractibilidad, puede soportar un intenso trabajo mecánico que le permitirá la expulsión del lactosuero (Quintanilla y Peña, 1992). Por este procedimiento se obtienen quesos con bajo contenido en humedad que pueden conservarse durante mucho tiempo (Early, 2000).

Por último, la coagulación mixta es la obtención de un gel mixto, el que puede producirse a través de la adición de cuajo a una leche previamente acidificada (Alais, 1985). Es decir que se obtiene por la acción combinada del cuajo y de fermentos lácticos acidificantes. Sus características corresponderán a las de las cuajadas enzimáticas (coagulación por cuajo), o a las de las lácticas (coagulación por ácido), según predomine una u otra de las acciones y, en función de ello, variará su grado de mineralización (Scott, 1991). Las cuajadas mixtas con carácter láctico dominante son geles fuertemente desmineralizados, que carecen de cohesión y no pueden ser trabajados con intensidad mecánicamente, siendo más aptos para la obtención de quesos pequeños. Las cuajadas mixtas con carácter enzimático dominante presentan un elevado grado de mineralización, permitiendo la obtención de quesos de gran tamaño (Quintanilla y Peña, 1992).

## Desuerado o sinéresis de la cuajada

El volumen de suero a extraer de la cuajada depende del tipo de queso a fabricar. En la elaboración de quesos duros, la mayor parte del suero se extrae durante el tratamiento de la cuajada en la cuba de coagulación y en forma más reducida durante las operaciones de moldeo y prensado (Dilanjan, 1984). La cuajada resultante ocupa entre el 10 y el 30% del volumen original de la leche.

La sinéresis puede presentar variaciones importantes y es el fenómeno más determinante del contenido en humedad del queso final (Walstra et al., 2001). Se realiza el corte con la finalidad de ocasionar la ruptura del gel, acelerar la sinéresis y lograr una mayor separación del suero (Alais, 1985). El gel tiende a exhibir sinéresis, es decir a contraerse y a expulsar el lactosuero. La causa de la sinéresis es que, en principio, una partícula puede establecer uniones con otras nuevas partículas, dando lugar a un empaquetamiento mucho más compacto entre las mismas. Esto es posible porque tienen puntos reactivos en toda su superficie, sin embargo, prácticamente no pueden ponerse en contacto porque están retenidas en la red del gel. La ruptura local de los enlaces, que hace que se rompan las hebras de la red, facilita la subsecuente formación de nuevos enlaces, induciéndose así la sinéresis. Durante la elaboración del queso, la sinéresis aumenta considerablemente con la temperatura y cuanto más bajo sea el pH (Walstra et al., 2001).

Otros factores de los que depende el contenido en humedad en el queso son el tamaño de corte de los granos de la cuajada, la agitación de los mismos en el lactosuero, cocción e intensidad del salado (Early, 2000).

La eliminación de la humedad en el queso determina y condiciona la consistencia final del mismo, su contenido en lactosa y, por tanto, en ácido láctico, con sus repercusiones físico-químicas. La intensidad del desuerado varía en función del tipo de queso a elaborar, y se dirige regulando la acidez y la intensidad de contracción del coágulo, que a su vez dependen principalmente, de la cantidad y naturaleza de fermentos y cuajos utilizados, así como la intensidad de las acciones mecánicas y térmicas realizadas (Quintanilla y Peña, 1992).

#### Moldeado

El objetivo fundamental del moldeo es lograr que se unan los granos de cuajada formando grandes piezas cuyas dimensiones dependen de la variedad de queso a elaborar (Dilanjan, 1984). En general durante el proceso de "pesca" de la cuajada, se puede utilizar una tela, la cual debe estar en perfecto estado, limpia y desinfectada. Una vez que se tenga la cuajada dentro de la tela, se podrá realizar un pre-prensado. Luego que el queso adquiere cierta compactación se lleva a los moldes (Borbonet, 2001). El molde da al queso su forma (Alais, 1985).

El moldeado de la cuajada solamente puede efectuarse si los granos se deforman y se fusionan. La deformación es necesaria porque toda la masa de la cuajada tiene que adoptar la forma del molde y porque los granos deben de contactar unos con otros prácticamente en toda su área. Es necesario una deformación viscosa ya que la masa de cuajada tiene que retener aproximadamente la forma obtenida cuando cese la fuerza externa (Walstra et al., 2001).

El método de moldeo de la cuajada determina la textura del producto obtenido. Se pueden obtener quesos con ojos irregulares, ojos redondos, mecánicos o con la pasta cerrada (Quintanilla y Peña, 1992).

#### Prensado

En esta etapa se busca seguir eliminando suero, compactar la cuajada y dar definitivamente la forma del queso (Revilla, 1985). El prensado es una operación física, por la cual a través de una cierta intensidad de presión se acaba de desuerar mecánicamente el queso. Se comenzará siempre con presión baja e irá en aumento (Borbonet, 2001). El prensado se efectúa mecánicamente, a través de un peso directo o aplicación de presión por muelle, palanca o giro de tuerca. La temperatura del local deberá estar comprendida entre 20-25°C, con el fin de evitar el enfriamiento rápido de la cuajada que disminuiría el efecto del prensado (Quintanilla y Peña, 1992). En esta etapa se permite completar el desuerado de la cuajada y regular la humedad del queso. Habitualmente se prensa en dos etapas: pre-prensado, donde se desuera y premoldea a una presión media o baja, y prensado final, en el propio molde (Morais, 2004).

#### Salado

La sal desempeña un papel fundamental en la conservación del queso, en su *flavour* y consistencia. Generalmente influye en la evolución de la maduración, en la formación de la corteza, y en ocasiones, en la retención de su forma (Walstra et al., 2001). También interviene en los procesos enzimáticos, en la selección y crecimiento de microorganismos y en las actividades bioquímicas de reducción de la actividad del aqua (Alais, 1985).

La adición de sal al queso puede realizarse de diferentes formas: salado en masa, espolvoreado y frotado de la corteza con sal gruesa o con sal fina o por

inmersión en salmuera (Ramírez, 2004). Este último método se aplica en quesos de pasta cocida, como el Sbrinz (Villegas, 2004). El queso se sumerge en una disolución saturada de cloruro de sodio (salmuera) absorbiéndose determinada concentración de sal (Walstra et al., 2001). Durante el salado en salmuera, la diferencia de concentración entre la fase acuosa del queso y la salmuera, provoca una difusión de la sal en la pasta, y una emigración inversa de la fase acuosa de la cuajada hacia la salmuera (Ballester, 2005). El salado por este método es más rápido y uniforme, a la vez que puede controlarse mejor la cantidad de sal absorbida. Por el contrario, si no se vigila la salmuera preparada puede ser un foco de contaminación debiéndose cambiar como mínimo cada semana. El tiempo de salado suele ser de 24 horas, aunque existen casos que se aplican otros tiempos. En el salado por salmuera es imprescindible el giro del gueso a la mitad del tiempo total; de lo contrario una cara no se salaría suficientemente y la otra en exceso. Ello provocaría defectos de la corteza, así como diferencias de concentración de la sal dentro del gueso. Durante la salazón, el moldeo y el prensado, los principales riesgos de contaminación de la cuajada, de la sal o de la salmuera pueden provenir entre otros: por el equipo, el personal o los lienzos (Quintanilla y Peña, 1992).

#### <u>Maduración</u>

Los procesos microbianos, bioquímicos, químicos y físicos que tienen lugar durante la maduración, producen importantes cambios en la composición y estructura del queso y, en consecuencia, en su *flavour* y textura (Walstra et al., 2001).

Un queso en maduración es un sistema bioquímico muy complejo, donde se establecen numerosos equilibrios y se entrecruzan múltiples rutas de degradación y síntesis. En esta etapa se van acumulando diversos contribuyentes al sabor y aroma de los quesos (péptidos, aminoácidos libres, aminas, amoníaco, cetonas, aldehídos, ácidos grasos libres, etc.). Estas sustancias ausentes o en bajas proporciones en leche surgen como consecuencia de las transformaciones de los componentes mayoritarios de ésta, a las que no son ajenos tampoco los componentes minoritarios. Estas transformaciones están en su mayoría catalizadas por enzimas procedentes del cuajo y de los microorganismos que pueden desarrollarse en el queso (Quintanilla y Peña, 1992).

El proceso se lleva a cabo en cámaras con temperatura y humedad relativa controlada. En este período, ocurre evaporación de agua, formación de la corteza y los complejos fenómenos bioquímicos (glicólisis, proteólisis y lipólisis) que permiten la neutralización parcial del pH de la pasta y la formación de los compuestos aromáticos (aminoácidos libres, ácidos grasos libres, metilcetonas y ésteres de los ácidos grasos, compuestos sulfurados como metanotiol, sulfuro de hidrógeno y dimetil sulfuro, acetaldehído, diacetilo y alcoholes como etanol y metanol, etc.) (Morais, 2004).

La proteólisis es un proceso fundamental en la maduración del queso y afecta tanto a la textura como al aroma y sabor del producto final. En la mayoría de los quesos la lipólisis desempeña un papel secundario, aunque no por ello sin importancia. La contribución relativa de la lipólisis está en principio determinada por el contenido en materia grasa y por la extensión con la que se ve favorecida durante la fabricación y maduración del queso. La oxidación de los ácidos grasos libres da lugar a la formación de otros compuestos volátiles, las metil-cetonas. Con respecto a la glicólisis es importante destacar que la lactosa residual sufre una serie de cambios en el queso madurado. La metabolización se realiza mediante una oxidación inicial del lactato a piruvato, parte del cual es posteriormente oxidado a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O (Varnam y Sutherland, 1995).

El objetivo de la maduración del queso, es que el mismo adquiera *flavour* y la consistencia deseada. Esta etapa se prolonga durante un tiempo variable y se lleva a cabo en las condiciones favorables para cada tipo de queso (Walstra et al., 2001).

La temperatura y la humedad a las que se mantienen los quesos durante su maduración suelen ser tales que causarían la alteración de la mayoría de los alimentos. La composición y las propiedades del queso deben impedir su deterioro. Todas las operaciones y tratamientos tienen que realizarse con el objetivo de obtener un producto que pueda mantenerse durante el período de maduración sin alterarse (Walstra et al., 2001).

#### CARACTERÍSTICAS DE QUESO TIPO SBRINZ

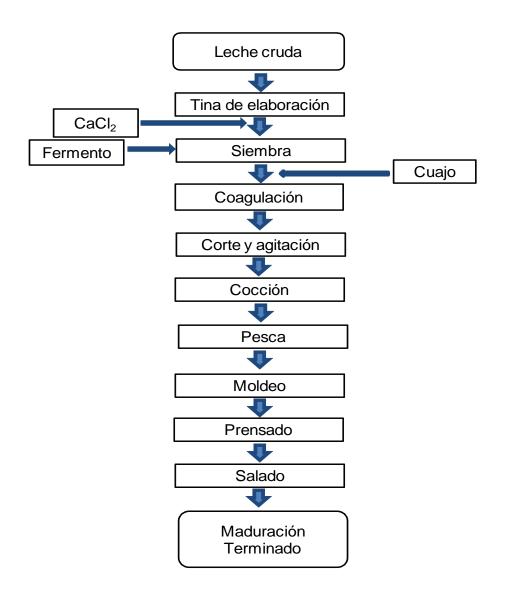
El Queso Sbrinz es un queso madurado que se obtiene a partir de leche coagulada por medio de cuajo y/o enzimas coagulantes apropiadas. A su vez, la coagulación de la leche es complementada por la acción de bacterias lácticas específicas. De acuerdo al contenido de humedad se lo clasifica dentro de los quesos de baja humedad o de pasta dura, los que presentan una humedad máxima de 35,9%. Con respecto a su contenido en materia grasa, se lo clasifica como semigraso a graso, con un contenido mínimo de 32g de materia grasa en 100g de extracto seco. Es un queso que debe ser de consistencia dura, textura compacta, quebradiza y granulosa; de color característico blanco amarillento y con un sabor salado levemente picante. No debe poseer ojos o eventualmente podrá presentar algunos ojos pequeños y algunos orificios mecánicos. Dichos quesos deben presentar forma cilíndrica de caras planas, de perfil ligeramente convexo y un peso de 5 a 10 kg. La estabilización y maduración del queso Sbrinz deberá ser de por lo menos 6 meses para la obtención de sus características específicas (MSP, 1994).

Las etapas de elaboración del queso tipo Sbrinz más características son: corte, el mismo se lleva a cabo en cubos rectangulares, los que se "cucharean" para dar lugar a la separación de la cuajada y el suero. Se continúa hasta que toda la cuajada ha sido cortada uniformemente y se han obtenido partículas del tamaño de la semilla de trigo (Zehren, 1976). La cocción de la cuajada provoca la contracción de la matriz proteica con la subsiguiente eliminación de una nueva fracción de suero (Alais, 1985). El incremento de la temperatura acelera también el metabolismo de las bacterias retenidas en la cuajada, la producción de ácido láctico aumenta, el pH desciende, y esta acidez facilita la retracción de las partículas lo que determina una nueva expulsión de suero. Por último, la maduración, la cual puede tener una duración máxima de 2 o 3 años (Scott,

1991).

El proceso de elaboración del queso tipo Sbrinz se esquematiza en el diagrama de flujo de la Figura I.

Figura I. Diagrama de flujo de Queso Sbrinz



#### MARCO LEGAL PARA QUESOS ARTESANALES

Disposiciones para quesos artesanales según Reglamento Bromatológico Nacional (MSP, 1994).

- La leche debe proceder de animales saneados de acuerdo a las exigencias de las campañas sanitarias vigentes, y declarados aptos por la Inspección Veterinaria Oficial.
- El Queso Artesanal debe elaborarse preferentemente con leche pasteurizada, utilizándose en este caso fermentos acidolácticos propios de la zona, preparados por el propio productor o por algún organismo o empresa competente. Se puede excluir la pasteurización cuando los tiempos de maduración superen los 60 días y cuando por motivos inherentes a las características intrínsecas del producto, sea necesario el uso de leche cruda y/o menor tiempo de maduración.
- Los quesos elaborados con leche no pasteurizada o con menos de 60 días de maduración, deberán tener control microbiológico periódico por un laboratorio oficial o de reconocida competencia.
- Los cuajos, sal, fermentos lácticos, sales de calcio, mohos, levaduras, suero-fermentos, reguladores de maduración, tintas, colorantes, aceites vegetales, especias, hierbas aromáticas, o cualquier otro aditivo, deben ser los estrictamente admitidos como inocuos para la salud pública.

#### ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (ETA)

Las ETA son enfermedades de transmisión alimentaria producidas por el consumo de alimentos contaminados por agentes biológicos (bacterias, virus, parásitos) o sus toxinas (Roig Sagués, 2004). Estas enfermedades pueden separarse en dos categorías: las intoxicaciones alimentarias resultantes de la ingestión de alimentos que contienen toxinas microbianas y las infecciones alimentarias ocasionadas por una infección resultante de la ingestión de alimentos contaminados con microorganismos (Madigan, Martinko y Parker, 1999). En el caso de las infecciones alimentarias donde hay un periodo de incubación, el tiempo que transcurre desde el momento de la ingesta hasta que se evidencian los primeros síntomas es mucho más largo que en el caso de las intoxicaciones como lo plantea Bintsis (2017). Estos agentes y toxinas llegan a los alimentos por inadecuada manipulación o conservación (Roig Sagués, 2004).

Estudios recientes evidencian que hay más de 200 ETA diferentes que afectan a las personas, observándose casos de mayor gravedad en adultos mayores, niños/as e inmunodeprimidos (Bintsis, 2017).

Se estima que 76 millones de casos de ETA ocurren cada año en los Estados Unidos, uno de cada 6 personas se contamina por consumo de alimentos contaminados, enfermándose anualmente más de 48 millones de personas

(Irshad y HsinHsieh, 2017). En el 2015, en la Unión Europea se informaron 4.362 brotes de origen alimentario, siendo en su mayoría causados por bacterias, entre las principales *Salmonella spp y Campylobacter spp.* (Bintsis, 2017). Al considerar los casos bacterianos, virales y parasitarias de enfermedades transmitidas por alimentos, *Salmonella* causa el 31% de las muertes relacionadas con los alimentos, seguido por *Listeria* (28%), *Campylobacter* (5%), y *Escherichia coli* O157:H7 (3%) (Institute of Food Technologist, 2004).

Por lo cual se consideran a las ETA como un problema grave para la salud pública, causante de infecciones y toxiinfecciones con gran morbilidad y grandes pérdidas económicas en los países. En ese sentido en Uruguay por ley, bajo el decreto Decreto 041/012 del MSP es obligatorio la notificación de casos sospechosos dentro de las 24 hs, a su vez se cuenta bajo la misma reglamentación con un sistema de vigilancia en articulación con otras instituciones como gobiernos departamentales y laboratorios.

Según el boletín epidemiológico del MPS del 2017, durante el año 2016 se reportaron 47 brotes en nuestro país, con mayor incidencia en los meses de calor, donde se vieron afectados un total de 663 personas. Del total de brotes, la mayoría ocurrieron en Montevideo (19 casos), en su mayoría proveniente de empresas gastronómicas, comedores y domicilios (Boletín Epidemiológico MSP, 2017). En los casos que se pudieron identificar, los principales microorganismos causantes fueron, en primer lugar, Salmonella spp. y en menor medida casos provocados por Coliformes, Echerichia coli, Staphylococcus aureus, Listeriosis, Adenovirus, Norovirus, etc.

Si bien todos los alimentos tienen posibilidades de transmitir enfermedades, por lo que la leche y productos lácteos no constituyen una excepción (OMS/FAO, 2007). La leche es un buen medio de crecimiento para muchos microorganismos debido a su gran contenido de agua, a su pH neutro y a su gran variedad de nutrientes disponibles (Doyle, 2001). Los animales productores de leche pueden ser portadores de agentes patógenos para los seres humanos. Estos patógenos presentes en la leche pueden aumentar el riesgo de ETA. Además, las actividades de ordeño, la mezcla posterior de la leche y su almacenamiento entrañan riesgos de contaminación por contacto con el hombre o el medio y la proliferación de patógenos. La leche también puede estar contaminada por residuos de medicamentos veterinarios, de plaquicidas o de otros contaminantes químicos. Por consiguiente, la aplicación de medidas adecuadas de control de la higiene de la leche y los productos lácteos a lo largo de toda la cadena alimentaria es esencial para garantizar su inocuidad (OMS/FAO, 2007). El empleo de leche cruda y las fallas en la manufactura, transporte y almacenamiento, explica que estos productos puedan ser de riesgo para la salud de los consumidores, y estén involucrados en brotes de ETA (Rodríguez, Caldas y Ogeerally, 2009).

## Microorganismos importantes en leche y queso

D'Amico y Donnelly (2017), plantea que la inocuidad del queso se puede ver afectada por peligros físicos, químicos y biológicos. Sobre estos últimos, Kousta y col. (2010) coloca a los principales microorganismos implicados en brotes de ETA originadas por el consumo de quesos: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* O157:H7.

La contaminación del queso con patógenos puede ocurrir en varias etapas. A nivel del predio entre otros: ambiente, ubres infectadas y los operarios. Asimismo, la leche cruda puede ser la causa de ETA en quesos elaborados a partir de la misma. Los microorganismos pueden estar presentes en equipos e instalaciones de las plantas elaboradoras. Las deficientes condiciones sanitarias de producción, almacenamiento, transporte y comercialización de este producto, son causas importantes de contaminación con microorganismos tales como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. y *Listeria* spp (Kousta, Mataragas, Skandamis y Drosinos, 2010; Rodríguez et al., 2009).

#### Staphylococcus aureus

Los integrantes del género *Staphylococcus*, son cocos Gram positivos, de 0.5-1.5 µm de diámetro, catalasa positivos, que se encuentran microscópicamente aislados, en pares, tétradas o formando racimos. Son inmóviles, facultativamente anaerobios, no formadores de esporas, generalmente no capsulados o con limitada formación de cápsula. Son bacterias que tienen las características de tener tolerancia a ambientes ácidos (pH menor a 4) y concentraciones de sal tan altas como 25% (D'Amico y Donnelly, 2017).

La enfermedad estafilocóccica trasmitida por alimentos, resulta de la ingestión de enterotoxinas termoestables preformadas por una cepa toxigénica de *Staphylococcus aureus* en alimentos (OPS, 2002).

Se reconoce la vinculación de malas prácticas higiénico-sanitarias en la preparación de alimentos con la producción de brotes alimentarios, siendo *Staphylococcus aureus* una de las principales causas de intoxicación alimentaria a nivel mundial (Rodríguez y col., 2009). De acuerdo a Kousta et al. (2010), se considera la tercera causa más importante en el mundo de ETA.

Los síntomas característicos de la intoxicación estafilocóccica son naúseas, vómitos, dolor abdominal y diarrea. Se desarrollan entre 1 y 6 horas después de haber consumido el alimento conteniendo enterotoxinas. Pueden ocurrir otras manifestaciones, como dolor de cabeza y disnea, pero con menor frecuencia. En general los síntomas no persisten más allá de las 24 horas y en casos severos puede haber deshidratación, originando descompensación electrolítica. Las muertes son raras y pueden ocurrir en ancianos, niños o personas débiles con alguna enfermedad (Díaz y González, 2001; Jablonsky y Bohach, 1997).

En Uruguay, durante el período 1993-2001 se declararon 12 brotes por dicha causa, con un total de 164 afectados sin fallecimientos. En 9 brotes se identificaron lácteos como alimento responsable, siendo carnes rojas y aves en los 3 restantes (OPS, 2002). Además, se evidenciaron algunos brotes en el año 2016 por dicho patógeno. (Boletín Epidemiológico MSP, 2017).

La contaminación de la leche cruda con *Staphylococcus aureus* se asocia principalmente con las infecciones de mastitis de rumiantes (Kousta et al., 2010).

#### Salmonella spp

El género *Salmonella* se incluye en la familia *Enterobacteriaceae*, integrada por bacilos pequeños, Gram negativos, anaerobios facultativos y que no forman esporas (OPS, 2002; Jay, Loessner y Golden, 2009). Poseen las características generales de las enterobacterias: fermentadores de la glucosa, catalasa positiva, oxidasa negativa y suelen ser móviles (*Salmonella gallinarum inmóvil*) Se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, siendo los hombres y los animales los principales reservorios (OPS, 2002). Esta bacteria se caracteriza por crecer en ambientes ácidos (algunos reportes plantean, pH 3,7), varias cepas pueden crecer a bajas temperaturas, inhibiéndose el crecimiento a temperaturas menores a 5 °C. (D´Amico y Donnelly, 2017).

Todas las salmonellas se han clasificado en dos especies, *S. entérica y S. bongori*, dividiéndose las aproximadamente 2000 serovariedades en cinco subespecies o grupos, la mayoría de los cuales se clasifican como *S. entérica*, la especie tipo. Los principales grupos corresponden a las siguientes subespecies: grupo II (*S. entérica* subesp. *salamae*); grupo IIIa (*S. entérica* subesp. *arizonae*); grupo IIIb (*S. entérica* subesp. *diarizonae*); grupo IV (*S. entérica* subesp. *houtenae*); grupo VI (*S. entérica* subesp. *indica*). Los que antes eran del grupo V se han elevado a la categoría de especie como *S. bongori* (Jay et al., 2009).

Prácticamente todas las especies diferentes de Salmonella provocan toxiinfecciones alimentarias denominadas en general salmonelosis (Mataix y Carazo, 2005). El síndrome de la toxiinfección por Salmonella se origina por la ingestión de alimentos que contienen una cantidad significativa de especies no específicas para el hospedador o serotipos del género Salmonella. A partir de su ingestión, los síntomas generales se desarrollan en 12-14hs, aunque es variable. Los síntomas consisten en naúseas, vómitos, dolor abdominal (no tan grave como en la intoxicación estafilocócica), cefalea, escalofríos y diarrea. Estos síntomas generalmente van acompañados de postración, debilidad muscular, desvanecimiento, fiebre moderada, nerviosismo y somnolencia. Los síntomas habitualmente duran 2-3 días. La tasa de mortalidad media es del 4,1% (Jay et al., 2009). Se estima que más de 1 millón de personas se enferman anualmente en EE. UU, con un promedio de 380 muertes a causa de esta toxiinfección. (Bintsis, 2017). En nuestro país, en el periodo comprendido 2012-2016 se observaron 64 brotes provocados microorganismo. (Boletín Epidemiológico MSP, 2017).

#### Escherichia coli

El grupo de bacterias coliformes totales está comprendido por bacilos Gram negativos no formadores de esporas, aerobios o anaerobios facultativos, que fermentan la lactosa con producción de gas dentro de las 48 horas a 35°C. El grupo de coliformes fecales, está constituido por bacterias Gram negativas capaces de fermentar la lactosa con producción de gas a las 48 horas de incubación a 44-45°C (Caballero, 2008).

Este grupo se define como microorganismos indicadores de calidad sanitaria (Paille, Hackney, Reily, Cole y Kilgen, 1987). El término bacterias coliformes se utiliza para designar a las enterobacterias más frecuentes encontradas en los alimentos. El recuento de estas bacterias es uno de los medios más significativos para la apreciación de la calidad higiénica de la leche. (González et al., 2007).

E. coli forma parte de la familia Enterobacteriaceae, la cual está integrada por bacilos Gram negativos no esporulados, móviles con flagelos perítricos o inmóviles, aerobios o anaerobios facultativos y fermentadores de lactosa. E. coli coloniza el tracto gastrointestinal a las pocas horas de vida del niño, y establece con el huésped una relación estable de mutuo beneficio. Como integrante de la flora normal del hombre y de muchos animales, se lo considera un germen indicador de contaminación fecal cuando está presente en el ambiente, agua y alimentos. Estas son enterobacterias que pertenecen al género Escherichia y a otros relacionados como Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter o Serratia, y que tienen en común la capacidad de fermentar la lactosa en un lapso no mayor de 48 horas, con producción de ácido y gas. Son gérmenes de gran ubicuidad y capacidad de proliferación, y a la vez de fácil cultivo e identificación, y por lo tanto muy útiles como indicadores de contaminación (OPS, 2002).

Basándose en los síndromes y en las características de las enfermedades, y también en su efecto en determinados cultivos celulares y en los grupos serológicos, se han identificado cinco grupos virulentos de *E. coli*: enteroagregante (EAggEC), enterohemorrágico (EHEC), enteroinvasivo (EIEC), enteropatógeno (EPEC) y enterotoxigénico (ETEC) (Jay et al., 2009).

Escherichia coli enterohemorrágica ha sido descripta durante los últimos años como uno de los microorganismos responsables de una buena parte de las infecciones alimentarias. Este patógeno puede dar lugar a dos síndromes característicos, el llamado síndrome gastrointestinal y el síndrome urémico (Román, 2003). Origina un cuadro severo de gastroenteritis que se asocia con el síndrome hemolítico-urémico. Se transmite por carne vacuna poco cocinada, leche no pasteurizada, queso, vegetales crudos o agua con contaminación fecal (García y Landa, 2008).

Se trata de un microorganismo con una gran capacidad de multiplicación en los alimentos, donde pueden crecer en presencia o ausencia de oxígeno (anaerobias facultativas), e incluso en refrigeración durante largos períodos. Esta bacteria coliforme es utilizada para realizar controles de calidad

microbiológica de rutina en las industrias lácteas. La misma puede causar serios problemas durante la elaboración del queso, dando lugar a un color y sabor desagradable (textura indeseable y en fases iniciales hinchamiento) (Román, 2003). La enfermedad causada por este microorganismo se caracteriza por una amplia gama de síntomas clínicos, incluyendo diarrea sin sangre, colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico, y la muerte (OPS, 2002). Según estudios recientes, en el 2015 se registraron 5901 casos confirmados por infecciones provocados por estos microrganismos en la Unión Europea, en el 2011 más de 4000 personas se enfermaron en 16 países de la Unión Europea y murieron 50 personas, con una alta proporción de personas adultas que resultaron infestadas y con sintomatología neurológica. (Bintsis, 2017). En nuestro país en el 2016 se identificó un brote causado por *E. coli*. (Boletín Epidemiológico MSP, 2017).

## Listeria monocytogenes

El género *Listeria* se caracteriza por ser, bacilos Gram positivos, no esporulados, no acidorresistentes, aerobios o anaerobios facultativos, catalasa positiva y que producen ácido láctico a partir de glucosa y de otros azúcares (Jay et al., 2009).

La principal especie patógena es *L. monocytogenes*, que tiene 13 serotipos (serotipada en base a sus antígenos O y H) todos patógenos para el hombre. Sin embargo, sólo tres de éstos son responsables de más del 90% de los casos de listeriosis en humanos (Ward et al., 2004). Se encuentra ampliamente distribuida en el ambiente y ha sido aislada de una gran variedad de lugares como el suelo, lodo, materia vegetal en descomposición, tierra, heces de animales, aguas residuales, ensilados y en el agua (Jay et al., 2009).

*L. monocytogenes* es el agente causal de listeriosis, una enfermedad infecciosa severa que también es transmitida por alimentos y se caracteriza por una muy alta tasa de mortalidad comparada con otras bacterias transmitidas por los mismos. Los productos lácteos contaminados con *L. monocytogenes* han sido implicados en casi la mitad de los brotes relatados de listeriosis en Europa (Kousta et al., 2010). El grupo con más alto riesgo son las mujeres embarazadas (en mayor porcentaje), recién nacidos, ancianos, pacientes con enfermedades neoplásicas y personas que tienen el sistema inmunitario comprometido. Este microorganismo es tolerante al estrés ambiental, creciendo a temperaturas entre 0,4-45 °C (sobreviviendo a temperaturas de refrigeración de 2-4 °C), valores de pH de 4,3-10, crecer en concentraciones de sal hasta el 10% (D´Amico y Donnely, 2017). Esto lo hace un patógeno alimentario muy peligroso para la salud pública.

En el 2015 se identificaron 2206 casos de listeriosis y 270 muertes y se estima que en EE. UU causa en promedio 1591 casos con 255 muertes. (Bintsis, 2017). En nuestro país en el 2016 se identificaron 13 casos de listeriosis, la mayoría en Montevideo y algunos casos en Colonia, Canelones y Soriano. En donde la presentación clínica en su mayoría fue la meningitis o meningoencefalitis. Del total de casos, 6 pacientes presentaban factores de

vulnerabilidad previa a la infección (embarazadas, inmunodeprimidos y recién nacidos). En ese brote la letalidad fue de un 33 %, por lo que la vigilancia epidemiológica se basa en la notificación obligatoria de casos de meningitis (Boletín Epidemiológico MSP, 2017).

El queso elaborado artesanalmente es uno de los productos lácteos que ofrece condiciones favorables para el crecimiento de *Listeria*, porque generalmente es elaborado a partir de leche cruda e incluso pueden existir inadecuadas prácticas de manufactura y no estar sujetos a controles (Espinoza, De La Torre, Salinas y Sánchez, 2004).

## **OBJETIVOS**

#### **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la calidad higiénico-sanitaria de quesos artesanales de pasta dura elaborados en la zona de Colonia, Uruguay.

#### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Describir las características más relevantes vinculadas a la elaboración y su influencia en la calidad higiénico-sanitaria de quesos artesanales tipo Sbrinz.
- Determinar la calidad higiénico-sanitaria y de composición de la leche cruda como materia prima empleada en la elaboración de este producto.
- Determinar la calidad higiénico-sanitaria de quesos artesanales tipo Sbrinz y compararlas con la reglamentación vigente.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Para el desarrollo de este trabajo se realizaron once muestreos en forma mensual en diez queserías artesanales de las zonas de Nueva Helvecia, Tres Esquinas y Pantanoso, Departamento de Colonia. Los muestreos se realizaron en el período comprendido entre Julio 2007 a Julio 2008. Se analizaron un total de 83 muestras de leche cruda de vaca utilizada como materia prima en la elaboración de queso artesanal tipo Sbrinz, así como los quesos pertenecientes al mismo lote de producción.

En la primera parte de este trabajo se realizaron encuestas a los productores para recopilar datos generales con la finalidad de caracterizar cada establecimiento.

Las muestras de leche se tomaron en forma aséptica y se enviaron acondicionadas y refrigeradas para su posterior análisis a los Laboratorios de Calidad de Leche del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA, La Estanzuela) y al Departamento de Ciencia y Tecnología de la Leche (Facultad de Veterinaria). Posteriormente, se tomaron muestras de queso cada lote (elaborado a partir de dicha leche) y se enviaron al Departamento de Ciencia y Tecnología de la Leche para su análisis (Figura II).

En el Laboratorio del INIA se efectuaron los siguientes análisis (Figura II):

Composición: Se determinó el porcentaje de materia grasa, proteína, lactosa y sólidos no grasos. Se empleó el equipo Bentley 2000 (BENTLEY®, USA). Equipo calibrado por método de referencia establecidos por la Federación Internacional de Lechería (FIL-IDF).

*Microbiológicos*: Se realizó el recuento total de mesófilos aerobios (RTMA) utilizando Petrifilm de 3M<sup>TM</sup> (AOAC).

Células Somáticas: Se determinó el recuento de células somáticas (RCS) empleando el equipo Somacount 300 (BENTLEY®, USA). Equipo calibrado por método de referencia establecidos por la Federación Internacional de Lechería (FIL-IDF).

Las muestras para composición y recuento de células somáticas fueron adicionadas con el preservante lactopol (Grupo Benzo®), mientras que para RTMA se utilizó preservante azidiol (Grupo Benzo®).

En el laboratorio de Ciencia y Tecnología de la Leche a partir de las muestras de leche se realizaron los siguientes análisis microbiológicos: determinación de coliformes totales y recuento de *Staphylococcus* coagulasa positiva conforme la metodología American Public Health Association (APHA, 2001) (Figura II).

Para realizar la evaluación de la calidad microbiológica en quesos se determinó Staphylococcus coagulasa positiva, coliformes totales (37±1°C) y coliformes termotolerantes (45±1°C). A su vez se realizó análisis para determinar presencia/ausencia de Salmonella spp y Listeria monocytogenes (APHA, 2001).

Con el fin de determinar la calidad del agua empleada en las queserías artesanales se procedió a un muestro en agosto-setiembre de 2007, recolectando una muestra por productor para su posterior análisis microbiológico. Las muestras se enviaron al Departamento de Salud Pública (Facultad de Veterinaria), en condiciones de refrigeración y debidamente acondicionadas e identificadas.

Se determinó el recuento de coliformes totales (37  $\pm$  1°C) y coliformes termotolerantes (44  $\pm$  1°C) según la metodología descrita por APHA, (1981).

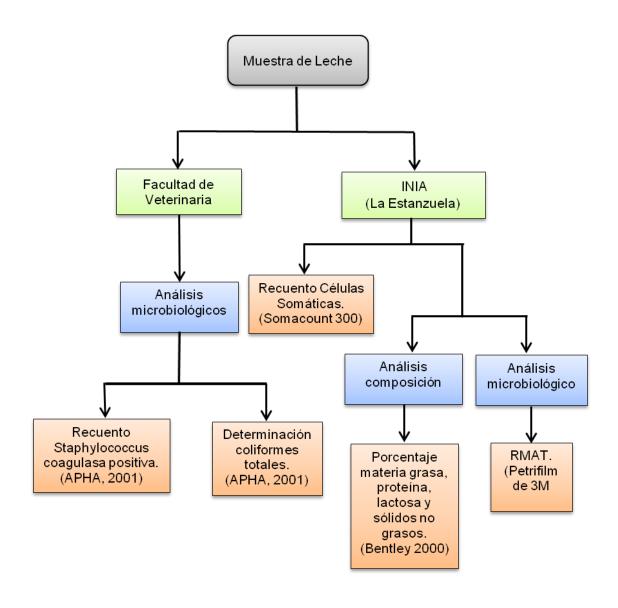


Figura II. Análisis realizados a las muestras de leche cruda

#### **RESULTADOS**

#### CARACTERÍSTICAS DE LOS ESTABLECIMIENTOS

Los establecimientos de este relevamiento son pequeños y exclusivamente se dedican a la producción de queso artesanal. El predio de mayor extensión cuenta con 61 hectáreas en explotación y el menor con 12 hectáreas. Los establecimientos son de bovinos raza Holando. Cinco de ellos cuentan con un número menor a 30 vacas en ordeñe, tres con un promedio de 50 y dos entre 70 y 80 vacas en el período evaluado.

Es de destacar que dos de los establecimientos pertenecen al grupo denominado "Los Treinta", el que actualmente está integrado por más de 30 familias con una visión en común, jerarquizando el trabajo artesanal, con el fin de introducir mejoras en la calidad y promover la exportación de este tipo de producto.

Todos los productores indicaron su tradición familiar en el rubro, lo cual les permitió adquirir el método de elaboración artesanal de estos quesos. Sólo uno de ellos cuenta con capacitación específica. En seis de los casos la mano de obra es familiar, donde la participación de la mujer es preponderante en la elaboración del queso, mientras que el resto presentan personal contratado para esta tarea.

Seis de los establecimientos presentan habilitación del tambo y refrendación anual vigente, de los cuales cinco cuentan con asistencia técnica exclusivamente veterinaria, con frecuencia esporádica y uno trimestralmente. En cuanto a la habilitación de la quesería, cinco de ellos presentan registro bromatológico, de los cuales sólo dos realizan análisis de los quesos elaborados (pertenecientes al grupo "Los Treinta").

Con respecto a las instalaciones del tambo, ocho presentan un buen acceso al galpón de ordeñe y el mismo tiene piso y paredes de cemento, a excepción de uno que éstas últimas son de chapa. Tres de ellos tienen techo de planchada y los restantes de chapa. En dos de los casos el galpón no era cerrado. Al apreciar las instalaciones (desagüe con declive, ángulo sanitario, iluminación, aberturas, etc.) se observó que sólo dos de los establecimientos (pertenecientes al grupo "Los Treinta") cuentan con condiciones edilicias adecuadas para la actividad (Figura III). En el resto de los establecimientos se observan diversas condiciones a mejorar en cuanto a las instalaciones edilicias. Se constató que en varios no presentan salas independientes para las diferentes etapas en el proceso de elaboración del queso, observándose que la mayoría realizan las etapas de salazón y maduración en la misma sala (Figura IV). Existe un caso en el que se realiza el proceso de elaboración, salazón y maduración del queso en el mismo galpón de ordeñe.



Figura III. Instalaciones e infraestructura de productor pertenecientes al grupo "Los Treinta"





Figura IV. Salas destinadas a salazón y maduración de quesos

Relacionado al equipamiento utilizado para el proceso de elaboración se observa que en nueve de los establecimientos las tinas son apropiadas (acero inoxidable de calidad alimentaria).

Para el salado se presentan recipientes de diferentes materiales, observándose en un caso de poliuretano y en los restantes cemento.

En cuanto a las salas de maduración tres de los establecimientos presentan salas con control de temperatura y humedad. Un caso presentó una cámara elaborada especialmente para esta tarea y los dos restantes presentaron equipos de aire acondicionado y control de la ventilación para este objetivo. En un establecimiento se realiza la maduración en un sótano, el cual mantenía una temperatura y humedad relativamente constante, aunque no se realizaba control de los mismos.

## PROCESO DE ELABORACIÓN DE QUESO ARTESANAL (TIPO SBRINZ)

En general, el proceso de elaboración realizado por los productores en este estudio es de acuerdo a la Figura I. Se aprecia que sólo un productor almacena la leche obtenida directamente del ordeñe en tanque de frío (4-6°C), mientras que en el resto de los casos se destina directamente a la tina de elaboración. Además, este mismo productor es el único que realiza pasteurización de la leche (65°C, 30′), mientras que algunos de los restantes productores realizan simplemente un calentamiento a 34-35°C por algunos minutos, previo a la adición del suero-fermento utilizado como cultivo iniciador.

## CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA EN LECHE CRUDA

# Recuento Total de Mesófilos Aerobios (RTMA) y Recuento de Células Somáticas (RCS)

Los resultados obtenidos en relación al RTMA en leche cruda, agrupados en categorías y expresados en logaritmo base 10 (log<sub>10</sub>) de ufc/mL, se muestran en la Figura V.

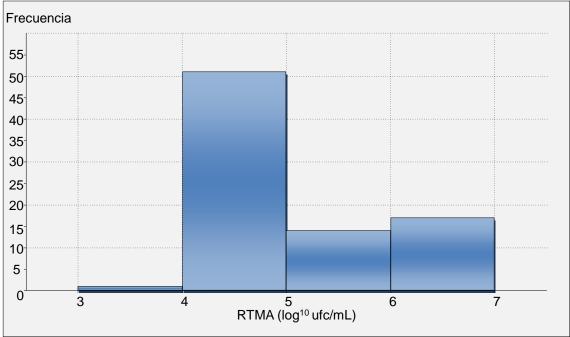


Figura V. Resultados agrupados en categorías del RTMA obtenidos en el total de muestras (n=83) de leche cruda expresados en log<sup>10</sup> ufc/mL

La Figura VI muestra los resultados de las muestras analizadas en relación al RCS, con una media de 455 ± 489 mil/mL, obteniéndose el recuento más bajo de 10 mil/mL y el más alto de 3.125 mil/mL.

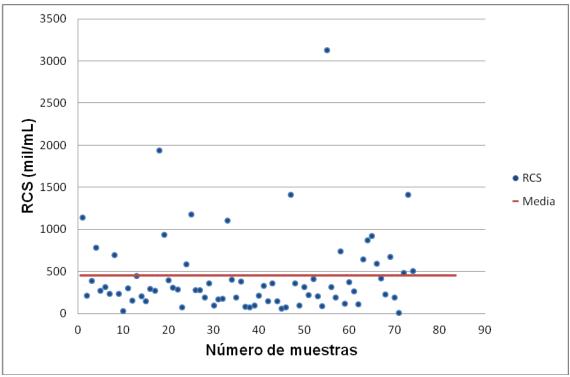


Figura VI. Resultados obtenidos del RCS en leche cruda (n=83)

<u>Determinación de coliformes totales y recuento de Staphylococcus coagulasa positiva</u>

Las Figuras VII y VIII muestran los recuentos obtenidos en leche cruda de los microorganismos coliformes totales y *Staphylococcus* coagulasa positiva agrupados en categorías y expresados en logaritmo base 10 (log<sup>10</sup>) de ufc/mL.

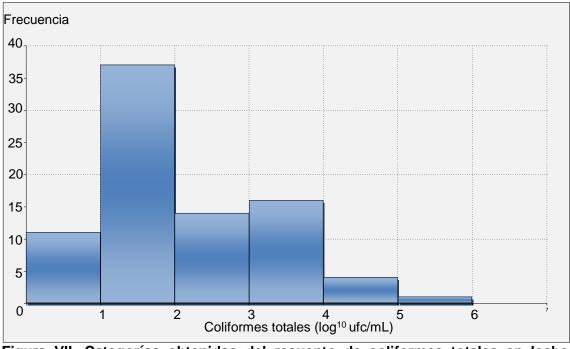


Figura VII. Categorías obtenidas del recuento de coliformes totales en leche cruda (n=83) expresados en log<sup>10</sup> ufc/mL

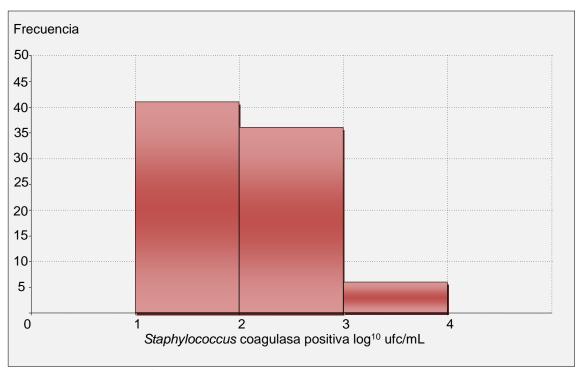


Figura VIII. Categorías obtenidas del recuento de *Staphylococcus* coagulasa positiva en leche cruda (n=83) expresados en log<sup>10</sup> ufc/mL

## Calidad de composición

En relación a la composición de la leche cruda los resultados obtenidos de sus principales componentes en el total de muestras analizadas (n=83) se muestran en el Cuadro III.

Cuadro III. Valores promedio en porcentaje de materia grasa, proteína, lactosa y sólidos no grasos en leche cruda

Muestras (n=83)	Materia Grasa	Proteína	Lactosa	Sólidos no Grasos
Media ± SD	$3,24 \pm 0,76$	$3,08 \pm 0,19$	4,72 ± 0,24	$8,50 \pm 0,37$
Valor mínimo	1,05	2,50	3,98	7,18
Valor máximo	5,41	3,74	5,15	9,51

SD: desvío estándar

## CALIDAD EN QUESOS ARTESANALES

#### Determinación de coliformes totales y termotolerantes

La Figura IX muestra los resultados para coliformes totales y termotolerantes, agrupados en categorías y expresados en logaritmo base 10 (log¹0) de NMP/g en queso artesanal tipo Sbrinz elaborado a partir de leche cruda.

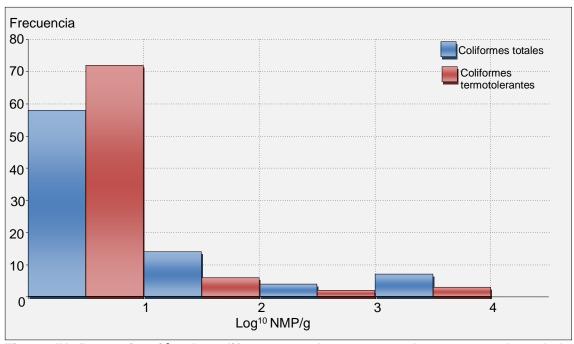


Figura IX. Determinación de coliformes totales y termotolerantes en el total de muestras analizadas (n=83) de queso artesanal agrupados en categorías y expresado en log<sup>10</sup> NMP/g

# Recuento de Staphylococcus coagulasa positiva

En la Figura X se muestran los recuentos obtenidos de *Staphylococcus* coagulasa positiva en queso artesanal tipo Sbrinz agrupados en categorías y expresado en log<sup>10</sup> ufc/g.

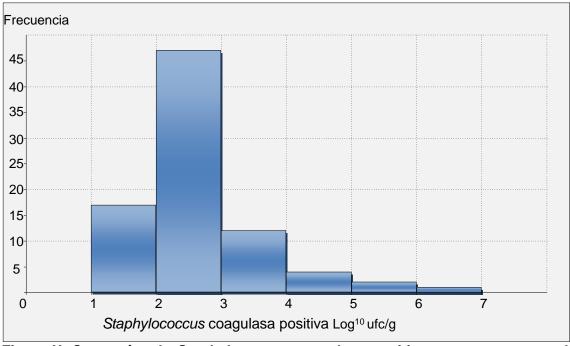


Figura X. Categorías de *Staphylococcus* coagulasa positiva en queso artesanal tipo Sbrinz (n=83) expresado en log<sup>10</sup> ufc/g

# Determinación de Listeria monocytogenes y Salmonella spp

La evaluación de *Listeria monocytogenes* como de *Salmonella* spp indicó ausencia en 25 gr. de muestra en todas las muestras analizadas (n=83).

# ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO EN AGUA

## Determinación de coliformes totales y termotolerantes

Los valores obtenidos de los análisis microbiológicos realizados a las muestras de agua recolectadas en cada establecimiento se muestran en la Cuadro IV.

Cuadro IV. Determinación de coliformes totales y termotolerantes en muestras de agua por establecimiento

Muestra	Coliformes totales (*1)	Coliformes termotolerantes (*2)
1	240	Presencia
2	Ausencia	Ausencia
3	38	Presencia
4	240	Presencia
5	240	Presencia
6	240	Presencia
7	> 240	Presencia
8	Ausencia	Ausencia
9	> 240	Presencia
10	> 240	Presencia

<sup>\*1</sup> NMP/100ml

<sup>\*2</sup> presencia/ausencia en 100ml

# DISCUSIÓN

Este estudio presentó como objetivo general determinar la calidad higiénicosanitaria de quesos artesanales de pasta dura (tipo Sbrinz) elaborados en la zona de Colonia. También se determinó la calidad higiénico-sanitaria y de composición de la leche cruda, materia prima empleada en cada elaboración.

Los análisis microbiológicos de los alimentos son una herramienta eficaz para establecer la calidad de un producto y de su proceso de elaboración. En base a los resultados se establece si el alimento es apto o no para su consumo, tomando en cuenta los criterios microbiológicos que determinan las normas sanitarias, a su vez permite prevenir y modificar los posibles puntos de contaminación a nivel predial (Rodríguez et al., 2009; Velázquez-Ordoñez et al., 2019).

De acuerdo a los resultados obtenidos en relación a la infraestructura de los tambos, queserías y habilitación de los mismos, en este estudio si bien 5 productores cumplían con las condiciones reglamentarias, existían diversos grados de carencias. Las más importantes se apreciaron a nivel de instalaciones (Anchieri et al., 2007).

Según DIEA (2020), durante el año 2019, los valores en el país para materia grasa se encontraron en el rango de 3,67-3,96 %, mientras que en este estudio el valor promedio fue menor: 3,24 %. En relación a proteína a nivel nacional en ese año los rangos fueron de 3,27-3,48 %, lo cual deja al valor promedio en estudio bastante menor: 3,08%.

En este contexto, el RBN (MSP.1994) establece que la leche no es apta para consumo o elaboración de cualquier producto alimenticio cuando el porcentaje de materia grasa es inferior a 2,9% en los meses de Abril-Agosto e inferior a 2,7% en el resto del año. Los resultados obtenidos en materia grasa fueron de 3,4% en los meses de Abril-Agosto y de 3.1% en el resto del año, por lo que es aceptable de acuerdo a los requisitos mencionados. Con respecto al extracto seco no graso (SNG), el valor obtenido de 8,5% se encontró en el límite establecido por el RBN.

#### CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA EN LECHE CRUDA

De acuerdo a D´Amico y Donnelly (2017), la calidad de leche cruda, es fundamental en la producción de todos los quesos, teniendo mayor relevancia en las elaboraciones del tipo artesanal, generalmente con leche cruda, lo que puede favorecer la diseminación y el desarrollo de microorganismos contaminantes y alterantes de los alimentos, así como los potencialmente patógenos. En este sentido, se ha demostrado que la leche cruda es una fuente potencial de posible contaminación de quesos elaborados a partir de la misma (Kousta et al., 2010), por este motivo es de importancia conocer la calidad higiénica de dicha materia prima.

El <u>RTMA</u> indica el número total de bacterias mesófilas aerobias presentes en leche cruda y provee una medida general de calidad higiénica de la leche en el proceso de ordeño y enfriamiento adecuado de la leche; sin embargo, tiene un

valor diagnóstico muy limitado, en lo que concierne a la identificación de bacterias contaminantes (Elmoslemany, Keefe, Dohoo y Dingwell, 2009; Moro et al., 2021).

En este trabajo los resultados obtenidos del RTMA en leche cruda (Figura V) se compararon con las especificaciones establecidas por el RBN en el Decreto 274/004 (MSP, 1994). El límite establecido en el mismo es de 1x10<sup>6</sup> ufc/mL (6 log<sub>10</sub> ufc/mL). Del total de muestras, 66 se presentaron por debajo de este límite, lo que significa que un 79,5%, estarían aptas para la elaboración de derivados según este parámetro. Analizando esos resultados un 62,6% de presentaron valores menores a 10<sup>5</sup> ufc/mL, de los que sólo el 1,2% (correspondiendo a 1 muestra) presentó valor por debajo de 10<sup>4</sup> ufc/mL. En este sentido, la calidad es inferior a la reportada por D'Amico y Donnelly (2010), quienes evaluaron 45 muestras de leche cruda bovina para la producción de quesos artesanales en el Estado de Vermont (EUA), obteniendo un 93% de muestras con valores menores a 10<sup>5</sup> ufc/mL y un 91% menores a 10<sup>4</sup> ufc/mL.

No obstante, es importante indicar que los valores estipulados considerados por el RBN, son elevados si se compara con lo establecido en el Sistema Nacional de Calidad de Leche del MGAP, Decreto Nº 382/016. Donde el límite máximo es de 100.000 ufc/ml para RTMA, del total muestras, se observó que el 57,8% de las muestras (n=48) presentaron valores por encima de ese límite. Es importante destacar que ese 57,8% de las muestras analizadas con valores superiores al permitido, no provienen de un productor en particular, sino que todos los productores presentaron en algún momento del periodo analizado algún registro alto.

Como planteamos más adelante el RTMA es un indicador de higiene en el proceso de ordeño y enfriamiento adecuado en la leche (Moro et al., 2021). Estos valores por encima del permitido, podría deberse a posibles deficiencias en las medidas higiénicas utilizadas. Según Calderón, García y Martínez (2006), la contaminación de la leche puede ocurrir durante la obtención y almacenamiento de la misma, condiciones higiénicas no adecuadas del tambo, de los sitios de ordeño, manos sucias de los operarios, calidad bacteriológica del agua y la no refrigeración rápida de la leche entre otros factores, situaciones que se observaron con frecuencia en el presente estudio. Además, de los diversos grados de carencias en las instalaciones se observó que sólo un productor aplica refrigeración en la leche, la que destina directamente del ordeñe al tanque de frío (4-6°C), lo que puede explicar en parte, los valores de recuentos elevados en los restantes establecimientos. Según un estudio realizado por Ruiz-Cortés, Orozco, Rodríguez, Idárraga y Olivera (2012), quienes estudiaron los factores que afectan el recuento de ufc/mL en la leche de tanque en Colombia, resumieron que un punto crítico dentro de la rutina de ordeñe, en cuanto a la contaminación microbiana, es el tiempo transcurrido desde el ordeñe hasta el tanque, sin alcanzar la temperatura de refrigeración.

Las <u>células somáticas</u> son una expresión del grado de inflamación que presenta la glándula mamaria por la presencia de patógenos o por otros factores de índole traumática, generalmente derivados de problemas en el ordeño e inapropiadas instalaciones, alterando la producción y composición de

la leche. (Moro et al., 2021; Pedraza, Mansilla, Fajardo y Agüero, 1999; Velázquez-Ordoñez, 2019). Siendo otro de los parámetros que se evalúa para categorizar la calidad de leche, sobre todo la destinada a la industria (Vissioa, Boumanb y Larriestrac, 2017).

Si se considera lo establecido en el decreto Nº 382/016 (MGAP), el límite máximo de RCS es 400.000 cél/ml. En el siguiente trabajo, se constató, que el 73% de las muestras (n=60) resultaron inferior, observándose solo un 26,8 % (n=22) por encima del límite permitido. El valor promedio fue de 392,4 mil/ml, resultando inferior al establecido para esta categoría. Estudios similares en nuestro país desarrollados en el periodo del 2016 al 2017, evidenciaron en las muestras analizadas niveles de RCS por encima de 300.000 cél/ml, pero por debajo del límite establecido de 400.000 cél/ml, (Grille, 2016) y valores de media de 375,600 cél/ml con variaciones de 70 a 3000.000 cél/ml (Vissioa et al., 2017).

La importancia de valores altos de RCS se fundamenta en que estas leches, entre otras alteraciones, pueden contener un mayor nivel de enzimas proteolíticas y lipolíticas, con disminución del porcentaje de caseína, lo cual reduce la producción de quesos y afecta el sabor y tiempo de conservación de los productos lácteos (Elmoslemany et al., 2009; Gillespie et al., 2012).

En este contexto, se analizaron los datos del presente trabajo, en base a RTMA y RCS, considerando el decreto Nº 382/016 (MGAP) para leche cruda. Con respecto a los valores obtenidos en este estudio del total de muestras analizadas (n=83) se obtuvo que un 69,9 % (n=58), presentaron valores por encima del máximo permitido.

D'amico y Donnelly, 2017, plantea que RCS y RTMA elevados en leche cruda tiene como impactos negativos que se evidencian no solo en la calidad del queso, sino que también en el rendimiento del queso y en la aceptabilidad del consumidor. Minimizar los tiempos desde el ordeño, recolección de la leche hasta el inicio de la elaboración del queso reduce la oportunidad de crecimientos de bacterias indeseables en la leche cruda.

Con respecto a <u>coliformes totales</u> la determinación de este grupo de microorganismos radica en la importancia como indicadores de la calidad higiénico-sanitaria de la leche y los alimentos. Dado que éstos son indicadores, señalan una calidad microbiológica deficiente en la leche, lo que indica a su vez posible interferencia con la microbiota nativa (Velázquez-Ordoñez et al., 2019), así como la posible presencia de enteropatógenos y/o toxigénicos que afectan la salud humana (Caballero, 2008).

Según el RBN (MSP, 1994), el límite establecido es de 10<sup>4</sup> ufc/mL (4 log<sup>10</sup> ufc/mL). Al comparar los valores obtenidos en este estudio, se observa que un 94% (n=78) de las muestras se encuentran por debajo de este límite. El trabajo realizado por D'Amico y Donnelly (2010) citado anteriormente, indica un 96% de las muestras con niveles menores o iguales a 10<sup>2</sup> ufc/mL para coliformes totales. Estos resultados difieren con los encontrados en el presente trabajo donde la calidad fue inferior ya que se obtuvo un 57,8% de las muestras con

niveles menores o iguales a 10² ufc/mL. El recuento de coliformes es uno de los medios más significativos para la apreciación de la calidad higiénica de la leche. En el caso de la leche cruda, se convierte en un índice del grado de limpieza de las manos de los operarios, de la limpieza y desinfección de la piel de los pezones y de las pezoneras entre otras causas (Calderón, García y Martínez, 2006; Velázquez-Ordoñez et al., 2019). El aumento del número de coliformes en leche también puede ocurrir cuando estos microorganismos crecen en leche residual que queda en las superficies de contacto en el equipo de ordeño mal desinfectado. Por otra parte, coliformes fecales o termotolerantes en leche cruda han sido utilizados como indicador de contaminación fecal. Ubres y pezones sucios son fuentes comunes de contaminación fecal y a menudo indican insuficiente preparación pre ordeñe de la vaca o contaminación del equipo de ordeñe siendo responsables de la contaminación de la materia prima (Pantoja, Reinemann y Ruegg, 2009; Velázquez-Ordoñez et al., 2019).

En relación al recuento de <u>Staphylococcus</u> coagulasa positiva el RBN (MSP, 1994) admite como límite hasta 10<sup>3</sup> ufc/mL (3 log<sub>10</sub> ufc/mL). En este trabajo el 92,8% (n= 77) de las muestras se encontraron por debajo de dicho límite, resultando aptas según este requisito. En un estudio realizado por Vasek, Cabrera, Coronel, Giori y Fusco (2004), quienes analizaron 20 muestras de leche cruda de vaca para la elaboración de quesos artesanales en Corrientes (Argentina), obtuvieron el 44% de las muestras entre 10<sup>3</sup> a 10<sup>4</sup> ufc/mL. Comparando esos resultados con los obtenidos se observa una marcada calidad superior en el presente estudio ya que el mayor porcentaje de muestras representado por un 49,4% fue con valores menores o iguales a 10<sup>2</sup> ufc/mL y apenas un 7,2% de las muestras analizadas entre 10<sup>3</sup> a 10<sup>4</sup> ufc/mL.

Es importante destacar que *Staphylococcus aureus* se desarrolla rápidamente en alimentos húmedos y ricos en proteínas, no adecuadamente refrigerados, tales como leche y productos lácteos. Además, este microorganismo, se multiplica a una temperatura que oscila entre los 7 y 47,8 °C, siendo óptima a 37°C. Presenta tolerancia a ambientes ácidos (pH menor a 4), a temperaturas de 60°C en 5-10 minutos y muy tolerantes a altos niveles de sal (> 10 % de cloruro de sodio) (Bintsis, 2017; Mataix y Carazo, 2005). Este microorganismo no representó el mayor problema en cuanto a calidad higiénico-sanitaria de la leche a pesar que en la mayoría de las queserías evaluadas no se aplicaba tratamiento térmico, sin embargo, puede existir contaminación con el mismo durante la elaboración lo que se discutirá posteriormente en el presente trabajo.

En síntesis, con respecto al aspecto microbiológico en leche cruda según las especificaciones establecidas por el RBN (MSP, 1994), el 69,9% correspondiendo a 58 muestras resultaron aptas para el consumo y la elaboración de cualquier producto alimenticio.

# CALIDAD MICROBIOLÓGICA EN QUESOS ARTESANALES

La determinación de coliformes totales y coliformes termotolerantes se comparó con el Decreto 419/997 que modifica los valores establecidos en cuanto a requisitos microbiológicos en el RBN (MSP, 1994). El mismo establece límites para estos microorganismos en quesos de baja humedad. El presente análisis se basa en los límites mínimos establecidos como criterio más exigente.

En relación a coliformes totales el 89,2% (n=74) de las muestras analizadas se encontraron por debajo del límite establecido de 2x10<sup>2</sup> ufc/g (2,3 log<sup>10</sup> ufc/g). Con respecto a coliformes termotolerantes el 94% (n=78) de las muestras no superó el límite de 1x10<sup>2</sup> ufc/g (2 log<sup>10</sup> ufc/g). Se destaca además que el mayor porcentaje de muestras tanto para coliformes totales (70%) como para coliformes termotolerantes (80%) se presentó en valores menores a 10 NMP/g. Díaz y González (2001), obtuvieron en un estudio de gueso blanco fresco clasificado como semiduro en la ciudad de Mérida (Venezuela) el 97,2% de 72 muestras por encima de 2x10<sup>2</sup> ufc/g respecto a coliformes totales y el 98,6% superando 1x10<sup>2</sup> ufc/g para coliformes termotolerantes. Asimismo, Rodríguez et al., (2009) obtuvieron para coliformes termotolerantes el 46,7% de 60 muestras de gueso "Telita" elaborado con leche bovina en Venezuela por encima de 1x10<sup>2</sup> NMP/g. Al comparar los resultados obtenidos en el presente trabajo con lo reportado por estos autores permite deducir que la calidad fue superior. coincidiendo en lo referente a coliformes totales con lo reportado por Brooks y col., (2012), quienes obtuvieron apenas un 8,3% de 36 muestras por encima de 2x10<sup>2</sup> ufc/g en diferentes localidades de EUA de gueso artesanal elaborado a partir de leche cruda bovina y madurado al menos por 60 días.

La existencia de coliformes totales en las muestras de queso indican contaminación en el proceso de elaboración, mientras que la presencia de coliformes termotolerantes indican potencial contaminación fecal y puede sugerir la presencia de otros microorganismos patógenos entéricos que constituyan un riesgo para la salud (Rodríguez et al., 2009; Velázquez-Ordoñez et al., 2019).

Vinculando los resultados obtenidos en relación a coliformes totales en las muestras de leche cruda con los obtenidos en sus respectivos quesos, se observa que el 87% de las muestras (n=83) presentan disminución en estos valores. Además, las 5 muestras (6%) que presentaron valores elevados con respecto a las especificaciones del RBN (MSP, 1994) en leche cruda, también evidenciaron disminución de los valores en quesos. Si bien en 2 de estas muestras se observó una disminución de una unidad logarítmica no resultaron aptas para el consumo. Por lo anterior, podríamos establecer que en las etapas de elaboración y maduración del queso se presentan efectos positivos para la disminución de coliformes totales. En general, no pueden atribuirse estas causas al efecto de tratamiento térmico ya que en este estudio sólo un productor realiza pasteurización, resultando sus muestras de leche y queso aptas. Por lo que se supone que esa disminución es debida a factores bioquímicos, fisicoquímicos y tecnológicos. Según Brooks et al., (2012) en la maduración del queso, el bajo nivel de actividad de agua, la sal, el pH bajo y la

competencia de los microorganismos por sustratos estarían explicando esta disminución.

En el caso de las 9 muestras (10,8%) en que los resultados de coliformes totales fueron elevados en quesos con respecto a las especificaciones del RBN (MSP, 1994), en 6 de ellas disminuyeron o mantuvieron los valores con relación a los obtenidos en la leche cruda. Sin embargo, las 3 muestras restantes presentaron un aumento de hasta dos unidades logarítmicas. La presencia de bacterias coliformes en los quesos, puede deberse a condiciones deficientes de elaboración, como, por ejemplo, manipuladores con presencia de coliformes en las manos ó agua no clorada (Alais, 1985; Velázquez-Ordoñez et al., 2019). En este trabajo 8 de los establecimientos estudiados presentaron altos niveles de coliformes totales y termotolerantes en agua, por lo cual su utilización determina una fuente importante de contaminación durante el proceso de elaboración, pudiendo ser uno de los motivos de estos resultados.

La determinación cuantitativa de <u>Staphylococcus</u> coagulasa positiva en alimentos se realiza con la finalidad de establecer su potencialidad para originar intoxicación alimentaria (Díaz y González, 2001). La contaminación bacteriana por especies del género *Staphylococcus* en queso elaborado artesanalmente se ve favorecida por el uso de las manos en la elaboración del producto (Rodríguez et al., 2009). Las fuentes de *Staphylococcus aureus* tienen un origen humano, por ejemplo, a partir de la piel, nariz, garganta, heridas, etc., por lo que se transmite fácilmente a los alimentos mediante la manipulación y hábitos higiénicos deficientes (Bintsis, 2017; Mortimore y Wallace, 1996). Generalmente, ese microorganismo puede eliminarse durante la cocción y su presencia en el producto terminado obedece a contaminación post-elaboración (Rodríguez et al., 2009; Velázquez-Ordoñez et al., 2019).

El recuento de *Staphylococcus* coagulasa positiva fue evaluado según el Decreto 274/004 del RBN (MSP, 1994), en el que se modifican estableciéndose específicamente los requisitos microbiológicos para quesos artesanales elaborados a partir de leche cruda. En este caso también se analizan los resultados en base al límite mínimo establecido de 1x10<sup>3</sup> ufc/g (3 log<sup>10</sup> ufc/g) como criterio más exigente. En este trabajo del total de muestras analizadas el 77,1% (n=64) no superaron dicho límite, por lo que son aptas de acuerdo a este requisito.

Los resultados obtenidos en este estudio son superiores en calidad a lo reportado por Díaz y González (2001), quienes evaluaron en la ciudad de Mérida (Venezuela) 72 muestras de queso blanco fresco semiduro y obtuvieron 41,7% por encima de 10³ ufc/g. No obstante, los rangos obtenidos por estos autores coinciden con los de este estudio siendo el valor mínimo 1x10² ufc/g y el máximo 5x106 ufc/g. En contraposición Brooks et al., (2012), obtuvieron el 2,4% de 41 muestras en diferentes localidades de EUA de queso artesanal elaborado a partir de leche cruda por encima de 1x10³ ufc/g.

En cuanto a la calidad de la materia prima vinculada con la del producto final (queso) en relación a los resultados obtenidos para *Staphylococcus* coagulasa positiva, no existió correspondencia en ninguno de los casos. Es decir que en

las 6 muestras que presentaron recuentos elevados en leche cruda se observó una disminución en el recuento obtenido en los quesos, los que resultan aptos para su consumo. Sin embargo, el 22,9% (n=19) de las muestras de quesos presentaron recuentos elevados con respecto al RBN (MSP, 1994), provenientes de muestras de leche cruda aptas. Su presencia en queso podría deberse a prácticas de manipulación deficientes en higiene e incluso contaminación post-elaboración (Rodríguez et al., 2009; Velázquez-Ordoñez et al., 2019). Es importante destacar que el 52,6% (n=10) de estas 19 muestras presentaron recuentos superiores al orden de 10<sup>4</sup> ufc/g, observándose el mayor recuento en el orden de 10<sup>6</sup> ufc/g. Según Díaz y González (2001), estas muestras constituirían un riesgo para el consumo, quienes consideran valor crítico 10<sup>4</sup> ufc/g representando una alta probabilidad de la presencia de alguna de sus enterotoxinas, la cual es mayor aún con valores de 10<sup>6</sup> ufc/g o superiores.

En referencia a <u>Listeria monocytogenes</u> y <u>Salmonella spp</u> lo establecido por el decreto mencionado es ausencia en 25g de queso, destacándose que todas las muestras analizadas resultaron negativas para dichos microorganismos. Estos resultados coinciden con lo reportado por Brooks et al., (2012), quienes revelaron que tanto *Listeria monocytogenes* como *Salmonella* spp estuvieron ausentes en 41 muestras de queso elaborados con leche cruda en EUA. Por otro lado, Espinoza et al., (2004), de 74 muestras de quesos frescos de leche de vaca elaborados artesanalmente en Perú, obtuvieron un 4,05% de las muestras positivas a *Listeria monocytogenes*. En relación a *Salmonella* spp, Vasek et al. (2004), obtuvieron un porcentaje de aparición del 3% en 100 muestras de quesos elaborados artesanalmente a partir de leche cruda de vaca en el estado de Corrientes (Argentina).

A su vez, en un estudio realizado por David et al., 2016, donde a partir de 76 muestras aleatorias en centros de comercialización (mercados vecinales) en Colombia, se observó un 40,79% (31/76) con presencia de *Salmonella spp* pero ausencia de *Listeria* spp. Atribuyendo los resultados positivos a la deficiencia en las Buenas Prácticas de Manufactura en el proceso de elaboración y transformación del queso como a la falta de tratamientos térmicos en la matriz alimentaria. Patógenos como *Salmonella* es considerada, una de las bacterias de mayor importancia en el queso, debido a que puede presentarse en el alimento por contaminación a partir de: manos del ordeñador, heces de los animales, contaminación del equipo de ordeño, aguas contaminadas o por deficiente tratamiento térmico en la materia prima (Albarracín, Sarmiento, Carrascal y Mercado, 2006; David et al., 2016).

Del mismo modo, se considera de importancia a *Listeria monocytogenes*, por ser, uno de los patógenos más importantes de origen alimentario dado que resiste diversas condiciones ambientales, por lo que constituye una seria amenaza a la seguridad de la industria alimentaria. El queso artesanal por sus condiciones de elaboración es uno de los productos lácteos que ofrece condiciones favorables para el crecimiento de la misma (Espinoza et al., 2004; David et al., 2016).

En definitiva, del total de muestras de quesos artesanales analizadas el 69,9% (n=58) resultaron aptas para su consumo, aunque existe correspondencia con las muestras de leche.

# **CONCLUSIONES**

Los establecimientos del presente estudio presentan diferentes características en relación a infraestructura, equipamiento y prácticas de elaboración que se reflejan en la calidad de sus productos.

El proceso de habilitación de tambos y queserías es fundamental para el aseguramiento de la calidad de los productos elaborados.

Las muestras de leche cruda en general presentaron altos RMAT, pero no se detectaron altos recuentos de coliformes totales y *Staphylococcus* coagulasa positiva, siendo la composición de la misma aceptable.

Respecto a la calidad higiénico-sanitaria de los quesos artesanales de este estudio *Staphylococcus* coagulasa positiva fue con mayor frecuencia el microorganismo causante de muestras no aptas para consumo.

Ocho de los establecimientos estudiados presentaron agua no apta para su utilización en el tambo y quesería artesanal.

# **RECOMENDACIONES**

A continuación, se exponen medidas generales que consideramos pertinentes en algunos establecimientos:

Mejorar las condiciones edilicias en general tanto del tambo como de las queserías. Presentar salas independientes para las diferentes etapas en el proceso de elaboración del queso. Implementar mejoras como por ejemplo: mantenimiento de los cerramientos (puertas y ventanas), con sus respectivas mallas anti plagas, desagüe con declive, ángulo sanitario, buena iluminación, etc.

Utilizar materiales de calidad alimentaria aceptable (acero inoxidable) no sólo en las tinas sino también en los utensilios que mantienen contacto con la leche o el queso (paleta, estantes, etc.).

Realizar una correcta limpieza y desinfección de todo el ambiente de trabajo.

Proporcionar capacitación a los operarios, productoras y productores, sobre hábitos higiénicos y medidas de prevención en el proceso de elaboración contra las infecciones trasmitidas por los alimentos.

Realizar con cierta periodicidad análisis microbiológicos de la leche y quesos producidos.

Implementar tratamiento térmico como pasteurización a la materia prima (leche) utilizada en la elaboración del queso.

Verificar las fuentes de agua de los establecimientos tomando medidas correctivas a efectos de mejorar la calidad del agua empleada en el tambo y las queserías. Se recomienda análisis físico-químico y microbiológico periódico de la misma. Se puede sugerir además el agregado de cloro como tratamiento de potabilización del agua, el mismo debe efectuarse con equipos adecuados que aseguren una concentración de cloro efectiva (0,3 a 1,5 ppm).

En resumen, elaborar, implementar y aplicar un manual de Buenas Prácticas de Manufactura.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Acuerdo Interinstitucional para el Desarrollo de la Quesería Artesanal, Asociación del Queso Artesanal, Facultad de Ingeniería, Instituto Nacional de la Leche, Laboratorio Tecnológico del Uruguay y Ministerio de Industria, Energía y Minería. (2017). Desarrollo de la quesería artesanal en Uruguay: proyecto de reconversión de los generadores de vapor irregulares a calderas de agua caliente. Montevideo: ADQA. Recuperado dehttps://catalogo.latu.org.uy/opac\_css/doc\_num.php?explnum\_id=2356
- Alais, C. (1985). Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera (4ª ed.) Barcelona: Reverté.
- Albarracin, F., Sarmiento, P., Carrascal, A., y Mercado, M. (2006). Estimación de la proporción de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp en quesos frescos (queso de hoja, cuajada) y queso Doble Crema producidos y comercializados en el Municipio de Pamplona, Norte de Santander. *Bistua*, 4(2), 30-41.
- American Public Health Association. (1981). Standard methods for the examination of water and wastewater (15<sup>a</sup> ed.) New York: American Public Health Association.
- American Public Health Association. (2001). Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods (4ªed.). Washington: American Public Health Association.
- Amiot, J., y Oria, R. (1991). Ciencia y tecnología de la leche. Zaragoza: Acribia.
- Anchieri, D., Carrera, D., Lagarmilla, P., y Aguirre, E. (2007). *Prácticas de Higiene en la Quesería Artesanal. Programa de desarrollo tecnológico.* Montevideo: Facultad de Veterinaria.
- Association of the Official Agricultural Chemists. (1997). Officials Methods of Analysis. Arlington: AOAC.
- Bagnato, D. (2004). *Quesería artesanal. Situación actual y desafíos para Uruguay*. Recuperado de http://www.iica.org.uy/data/documentos/5050.doc
- Ballester, P. (2005). La sal y los Quesos. Industrias Lácteas Españolas, 319, 17-20.
- Bintsis, T. (2017). Foodborne pathogens. *AIMS Microbiology*, 3(3), 529-563. doi: 10.3934/microbiol.2017.3.529.
- Borbonet Legnani, S. (2001). Historia de la quesería en Uruguay. Montevideo: LATU.
- Boletín Epidemiológico. (2017, mayo). Recuperado de https://www.gub.uy/ministerio-salud-publica/sites/ministerio-salud-publica/files/documentos/publicaciones/Bolet%C3%ADn%20epidemiol%C3%B3 gico%20Mayo%202017.pdf
- Brooks, J.C., Martínez, B., Stratton, J., Bianchini, A., Krokstrom, R., y Hutkins, R. (2012). *Food Microbiology*, 31(2), 154-158.

- Caballero, A. (2008). *Temas de Higiene de los Alimentos*. La Habana: Ciencias Médicas.
- Calderón, A., García, F., y Martínez, G. (2006). Indicadores de calidad de leches cruda en diferentes regiones de Colombia. Rev MVZ Córdoba, 11(1), 725-737.
- D'Amico, D.J., y Donnelly, C.W. (2010). Microbiological quality of raw milk used for small-scale artisan cheese production in Vermont: Effect of farm characteristics and practices. *Journal of Dairy Science*, 93, 134-147.
- D'Amico, D.J., y Donnelly, C.W. (2017). Growth and Survival of Microbial Pathogens in Cheese. En P.L.H. McSweeney, P. F. Fox, P.D. Cotter y D.W. Everett (Eds.), *Cheese Chemistry. Physics and Microbiology* (4ª ed., pp. 573-594). Londres: Academic Press. Recuperado de https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124170124000223?via %3Dihub
- David Castro, A., Porras Atencia, O. O., Bermúdez, S. C., Velasco Sánchez, N. J., y Osorio Padilla, M. L. (2016). Detección de Listeria ssp y Salmonella spp en queso y su relación con las caraterísticas fisicoquímicas. *Revista Politécnica*, 12(23), 91-98. Recuperado de https://revistas.elpoli.edu.co/index.php/pol/article/view/903
- Díaz-Rivero, C., y González de García, B. (2001). *Staphylococcus aureus* en queso blanco fresco y su relación con los diferentes microorganismos indicadores de calidad sanitaria. *RESPYN*, 2(3),1-9.
- Dirección de Estadística Agropecuaria. (2020). *Anuario Estadístico del sector lácteo 2019. Montevideo: MGAP*. Recuperado de: https://descargas.mgap.gub.uy/DIEA/Anuarios/Anuario2020/ANUARIO2020.pdf
- Dilanjan, S. (1984). Fundamentos de la elaboración del gueso. Zaragoza: Acribia.
- Doyle, M. (2001). *Microbiología de los alimentos: fundamentos y fronteras*. Zaragoza: Acribia.
- Early, R. (2000). Tecnología de los productos lácteos (2ª ed.). Zaragoza: Acribia.
- Elmoslemany, A.M., Keefe, G.P., Dohoo, I.R., y Dingwell, R.T. (2009). Microbiological quality of bulk tank raw milk in Prince Edward Island dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 92, 4239-4248.
- Espinoza, A., De La Torre, M., Salinas, M., y Sánchez, V. (2004). Determinación de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos de producción artesanal que se expenden en los mercados del distrito de ICA, Enero-Marzo 2003. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 21, 71-75.
- Federación Internacional de Lechería. (2010). *The World Dairy Situation 2010*. Bruselas: IDF.
- Federación Panamericana de Lechería. (2021). Situación de la cadena láctea en América Latina en el 2018. Recuperado de https://fepale.org/site/wp-

- content/uploads/2021/04/Informe\_Observatorio\_Cadena\_Lactea\_ALC\_2018.pd f
- García, C., y Landa J. (2008). *Toxiinfecciones alimentarias* (2ª ed.). Barcelona: Ergon.
- García Viejo, F., y Salinas, R. (1998) Calidad de la leche cruda: definición y tipos de calidad. *Revista Mensual de las Industrias Lácteas Españolas*, 236, 33-38.
- Gillespie, B.E., Lewis, M.J., Boonyayatra, S., Maxwell, M.L., Saxton, A., Oliver, S.P., y Almeida, R.A. (2012). Evaluation of bulk tank milk microbiological quality of nine dairy farms in Tennessee. *Journal of Dairy Science*, 95, 4275-4279.
- González, V., Pérez, V., Clemente, A., Mazariegos, M., Ruiz, M., y Rodríguez, M. (2007). Determinación de Coliformes totales en los productos lácteos y su comparación entre dos queserías del Municipio de Pijijiapan, Chiapas, México. *Bioquímica*, 32, 98.
- Grille Peés, L. (2016.). Caracterización estacional de la calidad de la leche de tanque en predios de la región litoral del norte del Uruguay. Efecto del tiempo de almacenamiento y tamaño del rodeo sobre la calidad higiénico-sanitaria (Tesis de maestría). Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. Recuperado de https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/handle/20.500.12008/23987
- Institute of Food Technologist. (2004). Bacteria Associated with Foodborne Diseases.

  Recuperado

  https://seafood.oregonstate.edu/sites/agscid7/files/snic/bacteria-associated-with-foodborne-diseases-scientific-status-summary-update2004-ift.pdf
- Instituto Nacional de la Leche. (2022). *Información del Uruguay, exportaciones, productos y destinos*. Recuperado de https://www.inale.org/uruguay-lechero/
- Instituto Plan Agropecuario. (1997, mayo). Seminario Regional de Calidad de Leche, Atlántida.
- Instituto Uruguayo de Normas Técnicas. (2000). Sistemas de Gestión de la Calidad. Fundamentos y Vocabulario (Norma ISO 9000:2000). Recuperado de http://endrino.pntic.mec.es/jhem0027/calidad/normalizacion/vocabulario.htm
- Irshad, M.S. y Ying-HsinHsieh (2017). Foodborne Pathogens in Milk and Dairy Products: Genetic Characterization and Rapid Diagnostic Approach for Food Safety of Public Health Importance. En R. Ross Watson, R. J. Collier y V. R. Preedy *Dairy in Human Health and Disease Across the Lifespan* (pp. 127-143). Londres: Academic. Recuperado de https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128098684000091
- Jablonsky, L., y Bohac, G. (1997). *Staphylococcus aureus*. En *Food Microbiology* (pp. 353-376). Washington: Ed. Press.
- Jay, J., Loessner, M.J., y Golden, D.A. (2009). *Microbiología moderna de los Alimentos* (5ª ed.). Zaragoza: Acribia.

- Kousta, M., Mataragas, M., Skandamis, P., y Drosinos, E.H. (2010). Prevalence and source of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels. *Food Control*, 21, 805–815.
- Madigan, M., Martinko, J.M., y Parker, J. (1999). Brock. *Biología de los Microorganismos* (8ª ed.). Madrid: Prentice Hall.
- Mataix, J., y Carazo, E. (2005). *Nutrición para Educadores* (2ª ed.). Madrid: Díaz de Santos.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (1999). Decreto 57/999: Díctanse normas referidas a determinación de calidad de la leche. Recuperado de:http://www.mgap.gub.uy/DGSG/Legislacion/Cap2\_Sanidades\_Especiales.pd f Fecha de consulta: 12 de Febrero de 2012.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (2003). Decreto 65/003: Exigencias para Establecimientos Productores de Quesos Artesanales, Acopiadores y Transformadores de Quesos. Recuperado de http://www.queseriartesanal.org.uy/c/document\_library/get\_file?folderId=9728& name=Libro+T%C3%A9cnico.pdf Fecha de consulta: 19 de Noviembre de 2012.
- Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. (2013). Decreto N° 382/016: Modificación del Decreto N° 359/013, relativo al Sistema Nacional de Calidad de la Leche. Recuperado de https://www.impo.com.uy/bases/decretos/382-2016
- Ministerio de Salud Pública. (1994). Decreto Nº 315/994: Reglamento Bromatológico Nacional (2ª ed.) Montevideo: IMPO.
- Ministerio de Salud Pública. (1994). Decreto Nº 315/994: Reglamento Bromatológico Nacional (5ª ed). Montevideo: IMPO. Recuperado de <a href="https://montevideo.gub.uy/sites/default/files/biblioteca/bromatologico5a.edicion.pdf">https://montevideo.gub.uy/sites/default/files/biblioteca/bromatologico5a.edicion.pdf</a>
- Morais, J. (2004). Estudio de adecuación de cepas lácticas autóctonas aisladas de leche cruda de oveja guirra para la elaboración de queso. Recuperado dehttp://tdx.cat/bitstream/handle/10803/5650/jm1de1.pdf?sequence=1
- Moro A, D., Velho, J. P., McManus, C., Knob, D., Vancin, F., Veiverberg, G., ... Thaler N. A. Lactose and its relationship with other milk constituents, somatic cell count, and total bacterial count. *Livestock Science*, 252, 104678. <a href="https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104678">https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104678</a>
- Mortimore, S., y Wallace, C. (1996). HACCP. Enfoque práctico. Zaragoza: Acribia.
- Observatorio de la Cadena Láctea Argentina. (2022). Evolución de la producción mundial de leche. Recuperado de https://www.ocla.org.ar/contents/news/details/18123105-evolucion-de-la-produccion-mundial-de-leche).

- Organización Mundial de la Salud, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2007). Codex Alimentarius: Leche y productos Lácteos. Roma: FAO.
- Organización Panamericana de la Salud. (2002). Enfermedades transmitidas por alimentos en Uruguay. Montevideo: OPS.
- Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. OCDE-FAO. (2021). Lácteos y sus productos. En *Informe OCDE-FAO: Perspectivas Agrícolas 2021-2030*. Recuperado de https://www.oecd-ilibrary.org/sites/02b800e9-es/index.html?itemId=/content/component/02b800e9-es
- Paille, D., Hackney C., Reily L., Cole M., y Kilgen. M. (1987). Seasonal variation in the fecal coliform population of Louisiana oysters and its relationship to microbiological quality. *Journal of Food Protection*, 50(7), 545-549.
- Pantoja, J.C.F., Reinemann, D.J., y Ruegg, P.L. (2009). Associations among milk quality indicators in raw bulk milk. *Journal of Dairy Science*, 92, 4978-4987.
- Pedraza, C., Mansilla, A., Fajardo, P., y Agüero, H. (1999). Cambios en la producción y composición láctea por efecto del incremento de células somáticas en la leche de vacas. *Agricultura Técnica*, 60(3), 251-258.
- Programa de Apoyo a la Competitividad y Promoción de Exportaciones de la Pequeña y Mediana Empresa. (2006). *Diagnostico Participativo del Cluster Quesería Artesanal de San José y Colonia*. Recuperado de http://www.pacpymes.gub.uy/c/document\_library/get\_file?folderId=9652&name= Diagnostico+Queseria.pdf
- Quintanilla, M. I., y Peña, A.E. (1992). *Cuadernos del Queso de oveja*. Madrid: Publicaciones Técnicas Alimentaria.
- Ramírez, M.A. (2004). Información Técnica: Fermentación y Maduración personalizada, una contribución nueva para las fábricas de quesos españolas. *Industrias Lácteas Españolas*, 304, 39-47.
- Revilla, A. (1985). *Tecnología de la leche. Procesamiento manufactura y análisis* (2ª ed.) San José: IICA.
- Rodríguez, C., Caldas, L., y Ogeerally, P. (2009). Calidad sanitaria en queso artesanal tipo "telita". Upata, estado Bolívar, Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 29, 98-102.
- Roig Sagués, A. (2004). Riesgos y peligros en los productos lácteos. El impacto de microorganismos patógenos y contaminantes químicos de origen diverso, aunque limitado, continúa despertando preocupación en la industria alimentaria.

  Recuperado de http://www.adiveter.com/ftp/articles/articulo1277.pdf
- Román, D. (2003). Leche que no has de beber. Madrid: Mandala.

- Ruiz-Cortés, T., Orozco, S., Rodríguez, L., Idárraga, J., y Olivera, M. (2012). Factores que afectan el recuento de ufc en la leche en tanque lecheros del norte de Antioquia-Colombia. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 15(1), 147-155.
- Scholz, W. (2007). Fundamentos del tratamiento de la leche. Elaboración de quesos de oveja y de cabra. Zaragoza: Acribia.
- Scott, R. (1991). Fabricación de gueso. Zaragoza: Acribia.
- Sganga, F., Cabrera, C., González, M., y Rodríguez, S. (2014). Producción Familiar Agropecuaria uruguaya y sus Productores Familiares a partir de los datos del Censo General Agropecuario y el Registro de Productores Familiares. Recuperado de: https://docplayer.es/94173489-1-contexto-regional-y-nacional-ing-agr-m-sc-fernando-sganga-1-lic-soc-cecilia-cabrera-2-bach-marina-gonzalez-3-bach-sabrina-rodriguez-4.html
- Sulaiman, I.M., y Hsieh, Y.-H. (2017). *Foodborne Pathogens in Milk and Dairy Products*. doi: 10.1016/B978-0-12-809868-4.00009-1
- Uruguay XXI. (2020). Promoción de Inversiones y Exportaciones. Informe Sectorial agronegocio. Recuperado de https://www.uruguayxxi.gub.uy/uploads/informacion/38e9164aa995240bac0a959e37a8c16b438da067.pdf
- Varnam, A., y Sutherland, J. (1995). Leche y productos lácteos. Zaragoza: Acribia.
- Vasek, O., Cabrera, R., Coronel, G.J., Giori, G.S., y Fusco, A.J.V. (2004). Análisis de riesgos en la elaboración de queso artesanal de Corrientes (Argentina). *Facena*, 20,13-22.
- Veisseyre, R. (1988). Lactología Técnica. Zaragoza: Acribia.
- Velázquez-Ordoñez, V., Carranza, B., Tenorio-Borroto, E., Talavera-Rojas, M., Varela G., J., Dibarrat, J., ... Pareja, L. (2019). *Microbial Contamination in Milk Quality and Health Risk of the Consumers of Raw Milk and Dairy Products*. Recuperado de https://www.intechopen.com/chapters/67214
- Villegas de Gante, A. (2004). Tecnología Quesera. México: Trillas.
- Vissioa, C., Boumanb, M., y Larriestrac, A. J. (2018). Milking machine and udder health management factors associated with bulk milk somatic cell count in Uruguayan herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 150, 110-116.
- Walstra, P., Geurts, T.J., Noomen, A., Jellema, A., y Van Boekel, M. (2001). *Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos*. Zaragoza: Acribia.
- Ward, T. J., Gorski, L., Borucki, M. K., Mandrell, R. E., Hutchins, J., y Pupedis, K. (2004). Intraspecific Phylogeny and Lineage Group Identification Based on the prfA Virulence Gene Cluster of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Bacteriology*, 186, 4994-5002.

Zehren, V. (1976). Manual de tecnología quesera. Montevideo: LATU.